



# **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

## **Evaluación de la sinergia en la asociación de antibióticos de productos farmacéuticos de uso veterinario**

### **TESIS**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

### **AUTORES**

Víctor Jesús CACHICATARI VARGAS

Miguel Ángel PALOMINO HUAMANÍ

### **ASESOR**

Mirtha ROQUE ALCARRAZ

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

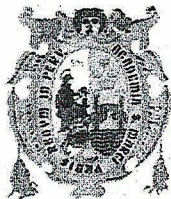
## **Referencia bibliográfica**

---

Cachicatari V, Palomino M. Evaluación de la sinergia en la asociación de antibióticos de productos farmacéuticos de uso veterinario [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2017.

---

1469



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
 Universidad del Perú. Decana de América  
**Facultad de Farmacia y Bioquímica**  
**Decanato**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

50

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**"EVALUACIÓN DE LA SINERGIA EN LA ASOCIACIÓN DE ANTIBIÓTICOS DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS DE USO VETERINARIO"**

Que presentan los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

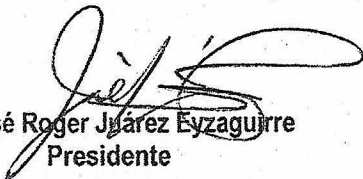
**MIGUEL ÁNGEL PALOMINO HUAMANÍ Y**  
**VICTOR JESÚS CACHICATARI VARGAS**

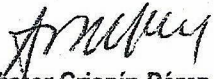
Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

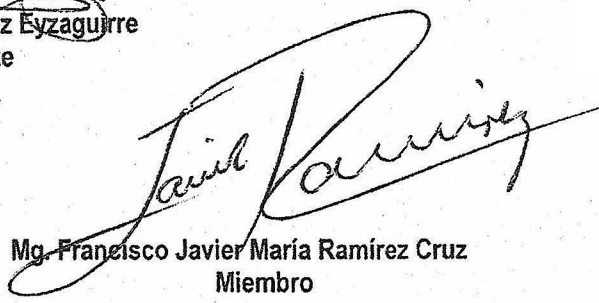
**SOBRESALIENTE (17)**

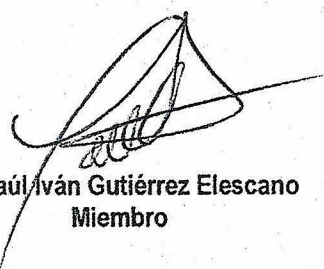
en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 28 de noviembre de 2017.

  
 Dr. José Roger Juárez Eyzaguirre  
 Presidente

  
 Dr. Víctor Crispín Pérez  
 Miembro

  
 Mg. Francisco Javier María Ramírez Cruz  
 Miembro

  
 Q.F. Paul Iván Gutiérrez Elescano  
 Miembro



**SINEACI**

SISTEMA NACIONAL DE EVALUACIÓN  
 ACREDITACIÓN Y CERTIFICACIÓN  
 DE LA CALIDAD EDUCATIVA

**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú

Teléfonos: (511) 328-4737 / (511) 679-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 - Lima 1

E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe

<http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001  
 BUREAU VERITAS  
 Certification

N° BR233265



## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios Padre, hacedor de la vida y quien ha puesto durante nuestras vidas a las personas correctas y las que son parte de nuestra felicidad.

A la Dra. Mirtha Roque Alcarraz, nuestra asesora de Tesis, quien nos brindó todo lo mejor que estaba a su alcance para lograr este trabajo. Nuestro aprecio y amistad quedará para siempre.

A la Dra. Delia Oyola Salcedo, que con sus conocimientos y amistad nos empujó y motivó en la realización de esta tesis.

Al laboratorio ASDELAB S.A.C. por brindarnos desinteresadamente el espacio y los materiales, sin los cuales, esto no hubiese sido posible.

A la cátedra de Microbiología y Parasitología Básica y Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, que en la recta final fue soporte decisivo para culminar con éxito nuestra parte experimental.

A Wendy y María Teresa, nuestras compañeras de vida, que con su inagotable cariño y motivación estuvieron pendiente de que esto fuera realidad.

A los Señores Miembros del Jurado por la extenuante revisión de estos textos y sus importantes aportes en la realización del mismo.

A Santos, Regina y Omar, quienes con su amor y sacrificio han dado lo mejor de sí para que logre mis objetivos y sea una persona de bien y exitosa.

A Daniela, mi pequeña hija y motor de mi vida, este logro también es tuyo.

***Miguel***

A mis padres Andrés y Delia, por enseñar a luchar hacia adelante, por su gran corazón y capacidad de entrega, pero sobre todo por enseñarme a ser responsable, gracias a ustedes he llegado a esta meta.

***Víctor***

## RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la sinergia de la asociación de antibióticos utilizados en productos farmacéuticos de uso veterinario, los cuales contienen amoxicilina, norfloxacino, gentamicina, fosfomicina, ciprofloxacino y se analizaron las asociaciones de las mismas: amoxicilina-gentamicina, ciprofloxacino-fosfomicina, amoxicilina-norfloxacino. Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) se utilizaron diferentes concentraciones de las materias primas utilizadas en la fabricación de estos productos utilizando la metodología de microdilución por tablero de ajedrez. Esto se evaluó frente a aislados clínicos tales como *S. aureus* y *E. coli*. Se halló que hubo sinergismo parcial para *S. aureus* en las asociaciones de materias primas de amoxicilina-gentamicina con las microdiluciones 32-2 µg/mL, 16-4 µg/mL, 4-8 µg/mL, 4-4 µg/mL, 2-4 µg/mL y 1-4 µg/mL y sinergismo en la asociación amoxicilina-norfloxacino con las microdiluciones 2-1 µg/mL, 1-1 µg/mL, 0,5-1 µg/mL, 0,25-1 µg/mL, 0,12-1 µg/mL y 0,06-1 µg/mL, así como en la asociación de ciprofloxacino-fosfomicina para la microdilución 16-4 µg/mL. En *E. coli* se observó sinergismo parcial en las tres asociaciones antes mencionadas. amoxicilina-gentamicina con las microdiluciones 32-0.12 µg/mL, 32-0.25 µg/mL, 32-0.5 µg/mL, 32-1 µg/mL y 16-2 µg/mL, amoxicilina-norfloxacino con las microdiluciones 16-0,12 µg/mL y 16-0,25 µg/mL y ciprofloxacino-fosfomicina con las microdiluciones 32-2 µg/mL, 16-4 µg/mL, 8-4 µg/mL, 4-4 µg/mL, 2-4 µg/mL. Se concluye que para *S. aureus* se halló sinergismo parcial en las asociaciones de amoxicilina/gentamicina y sinergismo en la asociación de amoxicilina/norfloxacino y ciprofloxacino/fosfomicina. En *E. coli* se obtuvo sinergia parcial en las asociaciones de amoxicilina/gentamicina, amoxicilina/norfloxacino y ciprofloxacino/norfloxacino.

**Palabras clave: Sinergia, antibióticos, productos farmacéuticos.**



## ABSTRACT

In the present study we evaluated the synergy of the association of antibiotics used in veterinary pharmaceuticals, which contain amoxicillin, norfloxacin, gentamicin, fosfomicin, ciprofloxacin and analyzed the associations thereof: amoxicillin gentamicin, ciprofloxacin fosfomicin, Amoxicillin - norfloxacin. To determine the minimum inhibitory concentration (MIC), we used methodology on raw materials used in the manufacture of these products. This was evaluated against clinical isolates such as *S. aureus* and *E. coli*. It has been found that, partial synergism on associations of raw materials of amoxicillin-gentamicin with the microdilutions of 32-2 µg / mL, 16-4 µg / mL, 4-8 µg / mL, 4-4 µg / mL, 2-4 µg / mL and 1-4 µg / mL and synergism in the amoxicillin-norfloxacin combination with microdilutions 2-1 µg / mL, 1-1 µg / mL, 0.5-1 µg / mL, 0.25-1 µg / mL, 0.12-1 µg / mL and 0.06-1 µg / mL, as well as in the association of ciprofloxacin-fosfomicin for microdilution of 16-4 µg / mL. In *E. coli* the partial synergism and the three above mentioned associations were observed. Amoxicillin-gentamicin with microdilutions 32-0,12 µg / mL, 32-0,25 µg / mL, 32-0,5 µg / mL, 32-1 µg / mL and 16-2 µg / mL, amoxicillin-norfloxacin With microdilutions 16-0, 12 µg / mL and 16-0.25 µg / mL and ciprofloxacin-fosfomicin with microdilutions 32-2 µg / mL, 16-4 µg / mL, 8-4 µg / mL, 4-4 µg / mL, 2 µg / mL and 1-4 µg / mL. We conclude that for *S. aureus* partial synergism was found in the associations of amoxicillin / gentamicin and synergism in the association of amoxicillin / norfloxacin and ciprofloxacin / fosfomicin. In *E. coli* partial synergy was obtained in the associations of amoxicillin / gentamicin, amoxicillin / norfloxacin and ciprofloxacin / norfloxacin.

**Key words: Synergy, antibiotics, pharmaceutical products.**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

### RESUMEN

### ABSTRACT

	Pág.
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>3</b>
2.1 Industria farmacéutica veterinaria .....	3
2.2 Antibióticos de uso veterinario .....	4
2.3 Asociación de antibióticos .....	14
2.4 Evaluación de la sinergia de antibióticos .....	20
<b>III. METODOLOGÍA .....</b>	<b>22</b>
3.1 Tipo de estudio.....	22
3.2 Lugar de ejecución del estudio.....	22
3.3 Muestra .....	22
3.4 Microorganismos de prueba .....	22
3.5 Procedimiento .....	22
3.6 Análisis de datos .....	27
<b>IV. RESULTADOS .....</b>	<b>29</b>
4.1 Determinación de la sinergia de la amoxicilina y gentamicina en <i>S. aureus</i> .....	29
4.2 Determinación de la sinergia de la amoxicilina y gentamicina en <i>E. coli</i> ...	31
4.3 Determinación de la sinergia de la amoxicilina y norfloxacino en <i>S. aureus</i> .....	33
4.4 Determinación de la sinergia de la amoxicilina y norfloxacino en <i>E. coli</i> ..	35
4.5 Determinación de la sinergia de la ciprofloxacino y fosfomicina en <i>S. aureus</i> .....	37

4.6 Determinación de la sinergia de la ciprofloxacino y fosfomicina en <i>E. coli</i>	39
<b>V. DISCUSIÓN .....</b>	<b>42</b>
<b>VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>45</b>
<b>VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>46</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las penicilinas .....	6
Tabla 2. Sensibilidad bacteriana a amoxicilina (Amox) y amoxicilina potenciada por ácido clavulánico (Amox/ clav.).....	7
Tabla 3. Clasificación de las aminoglucósidos .....	8
Tabla 4. Concentración mínima inhibitoria para aminoglucosidos .....	9
Tabla 5. Tiempo en que se alcanzan los picos plasmáticos y duración de niveles sanguíneos útiles para antibióticos aminoglucósidos.....	10
Tabla 6. Dosis de antibióticos aminoglucósidos .....	11
Tabla 7. Clasificación de las fluoroquinolonas .....	12
Tabla 8. Asociación Penicilina G Sódica - gentamicina. Algunas indicaciones en veterinaria.....	16
Tabla 9. Preparación de las soluciones stock .....	23
Tabla 10. Preparación de las diluciones estándar de las materias primas .....	24
Tabla 11. Concentraciones de los productos farmacéuticos veterinarios. ....	25
Tabla 12. Esquema de placa de microtitulación.....	26
Tabla 13. CMI individual según agente bacteriano y antibiótico .....	29
Tabla 14. Concentraciones del antibiótico amoxicilina – gentamicina en <i>S. aureus</i> . ....	30
Tabla 15. Concentraciones del antibiótico amoxicilina – gentamicina en <i>E. coli</i> ....	32
Tabla 16. Concentraciones del antibiótico amoxicilina – norfloxacino en <i>S. aureus</i> ....	34
Tabla 17. Concentraciones del antibiótico amoxicilina – norfloxacino en <i>E. coli</i> ....	36
Tabla 18. Concentraciones del antibiótico ciprofloxacino – fosfomicina en <i>S. aureus</i> .....	38
Tabla 19. Concentraciones del antibiótico ciprofloxacino – fosfomicina en <i>E. coli</i> .	40

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ejemplo de pocillos ante la sinergia de los medicamentos.....	28
Figura 2. Actividad antibacteriana del antibiótico amoxicilina – gentamicina en <i>S. aureus</i> .....	29
Figura 3. Actividad antibacteriana amoxicilina – gentamicina en <i>E. coli</i> .....	31
Figura 4. Actividad antibacteriana amoxicilina – norfloxacino en <i>S. aureus</i> .....	33
Figura 5. Actividad antibacteriana amoxicilina – norfloxacino en <i>E. coli</i> .....	35
Figura 6. Actividad antibacteriana ciprofloxacino – fosfomicina en <i>S. aureus</i> .....	37
Figura 7. Actividad antibacteriana ciprofloxacino – fosfomicina en <i>E. coli</i> .....	39

## I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen diversos medicamentos en el sector farmacéutico que son usados para tratar las enfermedades infecciosas en animales de consumo humano. El uso de antibióticos asociados o de forma individual aparentemente contribuye a la selección y propagación de resistencia entre poblaciones de bacterias en animales. La Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (FDA) menciona que 60% de los antibióticos de uso veterinario es empleado también en el tratamiento de diversas patologías en humanos. Esto puede ocasionar resistencia bacteriana en las personas que consumen los animales que han sido tratados con antibióticos, pudiéndose tener cada año 23 000 muertes y 2 millones de enfermedades por dichos microorganismos resistentes<sup>1</sup>.

Otro punto adicional a tener en cuenta es el tipo de fármaco a usar, su formulación, la dosis, modo de administración y tiempo que ha sido administrado, así como la formación del residuo que depende de la especie animal y de su biotransformación<sup>2</sup>.

Es por ello que actualmente se están buscando nuevas estrategias para hacer frente a la resistencia bacteriana, siendo la asociación de medicamentos una alternativa útil para este fin. Sin embargo un uso desmedido de los medicamentos asociados puede aumentar de manera considerable los efectos adversos de los mismos, disminuir la eficacia clínica y elevar el costo del tratamiento<sup>3</sup>.

Es así que el presente trabajo de investigación propone evaluar si la asociación de ciertos antibióticos, genera sinergia o no frente a los aislados clínicos de *E. coli* y *S. aureus*, bacterias que comúnmente producen infecciones tanto en el ser humano como en los animales; esto nos permitirá saber si los antibióticos en estudio producen el efecto esperado. Por otro lado, es preciso decir que para efectos del estudio no se trabajó con los antibióticos comerciales pero si con las materias primas usadas para su producción.

Por lo mencionado, los objetivos son:

### **Objetivo general**

Evaluar la sinergia de la asociación de antibióticos de productos farmacéuticos de uso veterinario.

### **Objetivos específicos**

- (1) Determinar la CMI individual de los antibióticos utilizados en la fabricación de los productos farmacéuticos veterinarios que contienen (amoxicilina, norfloxacino, ciprofloxacino, gentamicina y fosfomicina) para los aislados clínicos de *E. coli* y *S. aureus*.
- (2) Determinar la CMI de las asociaciones que contienen (amoxicilina/gentamicina; ciprofloxacino/fosfomicina; amoxicilina/norfloxacino) utilizados en la fabricación de los productos farmacéuticos veterinarios para los aislados clínicos *E. coli* y *S. aureus*.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Industria farmacéutica veterinaria

La industria farmacéutica tiene como finalidad la producción y comercialización de antibióticos para el tratamiento y la prevención de enfermedades en animales y humanos, siendo uno de los sectores económicos más rentables e influyentes del mundo, Además, es la industria que promueve más el sistema de patentes, debido a los elevados costos de investigación y desarrollo que requiere la introducción al mercado de nuevos productos farmaceuticos<sup>4</sup>.

Asimismo, la industria farmacéutica es uno de los sectores que registra una tasa de crecimiento constante desde el 2007, siendo ésta del 2,2 %, cifra que es mayor a la tasa de crecimiento del sector económico<sup>5</sup>.

Por otro lado, la aparición de nuevas patologías, la propagación de enfermedades conocidas a nuevas zonas geográficas, el cambio climático, y los nuevos conocimientos sobre la convergencia de la salud pública y la sanidad animal, son sólo algunos de los problemas que la industria farmacéutica debe enfrentarse a nivel mundial, desarrollando nuevas tecnologías que ofrezcan un mayor número de fármacos seguros, eficaces y de gran calidad<sup>6</sup>. De lo anterior se deduce que, pueden existir riesgos asociados al uso de medicamentos veterinarios que afecten la salud de los propios animales (reacciones adversas), como a los humanos que lo consuman (resistencias a los antibióticos o residuos de medicamentos veterinarios por encima de los límites establecidos)<sup>7</sup>.

En el Perú existen diversos laboratorios que fabrican y comercializan medicamentos veterinarios como Agrovét Market, Innova Andina, Biomont, Drocera, ofreciendo al mercado nacional e internacional, medicamentos simples o asociados en distintas formas de presentación, útiles para las enfermedades más frecuentes en el sector pecuario.

Según un reporte de los productos farmacéuticos vendidos en Perú, en el año 2013 se observó grandes ventas de productos farmacéuticos de uso



veterinario (exportación) con posición arancelaria 3004.20.20.00, con 11,9 %; además, de otros medicamentos para uso veterinario con posición arancelaria 3004.90.30.00, con 11,1%. En cuanto a la importación de productos de uso veterinario, se observa una posición arancelaria 3004.20.19.00, con 6 % y USD 34,4 millones<sup>8</sup>.

Sin embargo, la creciente adaptación y mutación microbiológica, ha hecho que se creen agentes microbianos resistentes a ciertos antibióticos. Es así que se hace necesaria una mayor vigilancia en la producción y distribución de dichos productos para un adecuado uso de los mismos.

## **2.2 Antibióticos de uso veterinario<sup>9</sup>**

Numerosas enfermedades veterinarias son causadas por una bacteria, para lo cual se necesita el suministro de medicamentos que alivien las dolencias y la carga patógena en los animales. Por otro lado, la decisión sobre el antibiótico a utilizar puede ser complicada en algunos casos.

La selección de antibióticos se debe basar en los siguientes factores:

- Características de agentes bacterianos sospechosos o confirmados .
- Prevalencia de mecanismos de resistencia a los antibióticos en las bacterias sospechosas o confirmadas.
- Habilidad para alcanzar el sitio de infección a una concentración eficaz.
- Dosis, frecuencia, duración del tratamiento y vía de administración de formulaciones antibióticas disponibles.

### **2.2.1 Pruebas de susceptibilidad a antibióticos<sup>9</sup>**

Las pruebas de susceptibilidad a antibióticos en un cultivo puro bacteriano, se deben realizar:

- Cuando el animal presenta una reacción adversa al antibiótico seleccionado o no se puede predecir la susceptibilidad del medicamento en función del microorganismo identificado<sup>9</sup>.

- Para la selección de un antibiótico eficaz teniendo en cuenta que los patógenos bacterianos en los animales y seres humanos cambian con el paso del tiempo.

### 2.2.2 Técnica de microdilución

Es un método cuantitativo que permite conocer la concentración mínima inhibitoria de una cepa bacteriana que se desee aislar para ser estudiada. Presenta como ventajas: mayor capacidad de analizar la susceptibilidad de varios antibióticos al mismo tiempo, facilitar el uso de placas de microtitulación preparadas comercialmente y mayor rapidez de los resultados con métodos automatizados. Sus limitaciones son: mayor costo, el que no se puedan adaptar los antibióticos cuando se usan kits preparados comercialmente, la restricción de la cantidad de concentraciones de antibióticos a analizar por el tamaño de las placas, la concentración mínima inhibitoria exacta puede estar fuera del rango analizado (se informa como ‘superior a X  $\mu\text{g/ml}$ ’ y no como una concentración definida)<sup>9</sup>.

### 2.2.3 Penicilinas

Es uno de los antibióticos que se caracteriza por ser eficaz y presentar baja toxicidad. Se obtiene del *Penicillium chrysogenum* irradiado, que permite que la extracción de la penicilina sea un proceso fácil y productivo, aunque inicialmente se obtenía del cultivo *Penicillium notatum*<sup>10</sup>.

En cuanto al mecanismo de acción, la bencilpenicilina es un antibiótico que tiene una mayor acción cuando los microorganismos están en fase de multiplicación, es decir, en fase de división. Actúa interfiriendo con la síntesis de peptidoglicanos de la pared celular bacteriana. Estos antibióticos se unen fuertemente a las proteínas fijadoras de penicilinas que inhiben la enzima de transpeptidación, impidiendo el enlazamiento de los péptidos con las cadenas de

polisacáridos adyacentes y bloqueando la producción de N acetilglucosamina y ácido N acetilmurámico precursores de peptidoglucano, necesarios para la formación de la pared bacteriana y para proteger la integridad microbiana frente a las diferencias de osmolaridad que existen entre el medio externo e interno de la bacteria<sup>11</sup>.

La clasificación de las penicilinas se presentan en la Tabla 1:

**Tabla 1.** Clasificación de las penicilinas

Penicilinas Naturales	Resistentes a la penicilinasa	Aminopenicilinas	De amplio espectro
Bencilpenicilina Sódica	Cloxacilina	Ampicilina	Ticarcilina
Bencilpenicilina Potásica, procaínica y benzatinica.	Dicloxacilina	Amoxicilina	Carbenicilina
Fenoximetilpenicilina	Nafcilina	Hetacilina	Combinación con ácido clavulánico, sulbactam, bacampicilina o azlocilina
	Meticilina		
	Flucloxacilina		

Fuente: Sumano, 2006.

Las concentraciones inhibitorias mínimas para la mayoría de los patógenos sensibles a la bencilpenicilina fluctúan entre 0,02 - 0,5 UI/mL. Sin embargo, las sales de procaína y benzatina alcanzan concentraciones plasmáticas inferiores a las de sales de penicilina sódica o potásica, por lo que se utilizan como terapia de mantención, en infecciones leves o en gérmenes muy sensibles a la penicilina<sup>12</sup>.

La clasificación de la sensibilidad se presenta en la tabla 2.

**Tabla 2.** Sensibilidad bacteriana a amoxicilina (Amox) y amoxicilina potenciada por ácido clavulánico (Amox/ Clav.)

Organismos		Sensibilidad	
Perros y gatos	Número de Cepas	Amoxicilina (%)	Amoxicilina/ac. clavulánico (%)
<b>Perros y gatos</b>			
<i>Staphylococcus</i>	346	50	99,7
<i>E. Coli</i>	69	72	93
<i>Proteus</i>	42	57	100
<i>Klebsiella</i>	34	3	97
<b>Bovinos</b>			
<i>E. Coli</i>	197	36	89,8
<i>Salmonella</i>	155	3	100

Fuente: Pérez, 2010: 300.

### Amoxicilina

Se encuentra dentro del grupo de penicilinas de espectro ampliado con actividad bactericida frente a bacilos Gram negativos (*Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y especies de *Neisseria*), bacilos Gram positivos y cocos Gram negativos y positivos<sup>10</sup>.

### Uso terapéutico en animales de consumo humano (aves y cerdos)

Se usa para el control y tratamiento de enfermedades respiratorias, gastrointestinales, urogenitales e infecciones de piel y tejidos blandos en porcinos y aves (pollos parrilleros y pollas de reposición) causadas por gérmenes sensibles a la amoxicilina. No se debe administrar en gallinas ponedoras cuyos huevos se destinen a consumo alimentario humano<sup>13</sup>.

En aves, se emplea para el tratamiento de pasteurellosis y colibacilosis causados por cepas sensibles a éste antibiótico<sup>14</sup>.

En porcinos, se emplea para el tratamiento de procesos infecciosos causados por *S. suis*<sup>14</sup>.

Debe considerarse además que sólo se logran concentraciones terapéuticas a dosis de 20 mg/kg de peso, administrados estratégicamente como se indicó independientemente de si el

veterinario se encuentre con el hecho de que estas dosis están por arriba de lo usualmente aceptado en la práctica como económicamente viable <sup>15</sup>.

#### 2.2.4 Aminoglucósidos

Este grupo incluye una serie de antibióticos que comparten características químicas y farmacológicas comunes.

- Aminoglucósidos específicos de espectro reducido como la estreptomina y la dehidroestreptomina: activos contra bacterias gramnegativas.
- Aminoglucósidos de amplio espectro como la neomicina, la frameticina, la paromomicina y la kanamicina: activos contra las bacterias gram positivas y gram negativas.
- Aminoglucósidos de espectros extendido como la gentamicina, la tobramicina, la sisomicina, la amikacina y la netilmicina: actúan sobre *Pseudomonas aeruginosa* <sup>16</sup>.

Las subclases o tipos de aminoglucósidos se presentan en la tabla 3:

**Tabla 3.** Clasificación de los aminoglucósidos

<b>Estreptomina</b>
<b>Amikacina</b>
<b>Gentamicina</b>
<b>Tobramicina</b>
<b>Netilmicina</b>
<b>Neomicina-Kanamicina</b>

Fuente: Katzung; 2012: 824

En la tabla 4 se presenta la concentración mínima inhibitoria de la gentamicina y de otros aminoglucósidos para bacterias gram positivas como gram negativas.

**Tabla 4.** Concentración inhibitoria mínima para aminoglucosidos

Organismos	Estreptomicina (µg/mL)	Neomicina (µg/mL)	Gentamicina (µg/mL)
<b>Cocos Gram Positivos</b>			
<i>S aureus</i>	25	0,4	0,8
<i>Streptococcus agalactie</i>	200	-	50
<i>Streptococcus uberius</i>	64	32	-
<b>Bastones Gram Positivos</b>			
<i>B. anthracis</i>	< 10	-	<=4
<i>C. pseudotuberculosis</i>	-	-	4
<i>E. rhusiopathie</i>	-	-	> 50
<i>L. monocytogenes</i>	25	3	12
<i>R. Equi</i>	3,1	0,2	0,25
<b>Bastones Gram negativos</b>			
<i>Actinobacillus</i>	<=1	-	1
<i>B. bronchiséptica</i>	400	12,5	3,1
<i>Brucella canis</i>	0,2	-	0,3
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	-	<b>0,3</b>
<i>E. coli</i>	>64	>64	2
<i>H. equigenitalis</i>	>100	1,6	0,4
<i>K. pneumoniae</i>	400	400	4
<i>Leptospira sp</i>	0,4	-	-
<i>M bovis</i>	20	0,13	0,4
<i>P. multocida</i>			
Bovinos	>128	32	8
Cerdos	25	-	6,3
<i>Salmonella sp</i>	200	3,1	6,3
<i>Proteus sp</i>	>20	16	1,2

**Fuente:** Pérez, 2010: 319.

En la tabla 5, observamos el tiempo que demora en alcanzar la máxima concentración plasmática y el tiempo de duración en sangre de los aminoglucósidos en diferentes animales:

**Tabla 5.** Tiempo en que se alcanzan los peak plasmáticos y duración de niveles sanguíneos útiles para antibióticos aminoglucósidos

Antibiótico	Tiempo en alcanzar concentración plasmática máxima (min)	Duración de niveles sanguíneos útiles	
		Tiempo (horas)	Concentración (mg/kg)
<b>Gentamicina</b>			
Caballo	30	4	5
Oveja	45	6	2.2
Perro	60	6	2-4
<b>Kanamicina</b>			
Caballo	60	4-6	5
<b>Amikacina</b>			
Caballo	60	12	25

**Fuente:** Pérez, 2010: 320.

### Gentamicina

Es un aminoglucósido aislado de *Micromonospora purpurea*, que es bastante utilizado en la medicina veterinaria. Es una mezcla de tres fracciones gentamicina C1, C2 y C1A. Se caracteriza por ser eficaz contra microorganismos grampositivos y gramnegativos, teniendo propiedades similares a las de otros aminoglucósidos. Una de las presentaciones más usadas es el sulfato de gentamicina<sup>11, 16, 17</sup>.

### Uso terapéutico en animales de consumo humano (aves y cerdos)

Es efectiva frente a *Enterobacter aerogenes*, *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*; algunas especies de *Serratia* y varias especies de *Salmonella* y *Shigella*. Sin embargo, no tiene actividad antibacteriana frente a las bacterias anaerobias o en condiciones de anaerobiosis. Se usa en forma tópica en quemaduras<sup>16, 18</sup>.

En cerdos se emplea para tratar la diarrea del lechón, la enterotoxemia colibacilar de los lechones destetados y de los cerdos de engorde, pleuroneumonía por *Haemophilus*, bronconeumonía y

neumonía enzoótica, salmonelosis y síndrome de metritis-mastitis-agalactia<sup>2</sup>.

La combinación de aminoglucósidos con otros antibióticos, en algunos casos puede producir un efecto sinérgico o aditivo y en otros casos un efecto antagónico<sup>12</sup>. Las dosis empleadas según el animal a tratar se explican en la tabla 6.

**Tabla 6.** Dosis de antibióticos aminoglicósidos

ESPECIE	Estreptomicina (mg/kg)	Neomicina (g)	Gentamicina (mg/kg)
Caballos	10	Oral 4,0 – 7,5	2,2 -5 c/6-8 h
Bovinos	10	4,0 – 7,5	
Ovinos	10	0,75 – 1,0	
Cerdos	10	----	
			<b>Kanamicina</b>
Caninos	10 - 20	0,2-0,5	5 c/8 h
Equinos	----	----	
Aves	100 - 200		
Pollos	5 - 10		
			<b>Tobramicina</b>
Bovinos	1000 -2000	<b>Amikacina</b> 0,025 c/ 12 h.	5 c/8 h
Equinos	---		

**Fuente:** Pérez, 2010: 323.

### 2.2.5 Fluoroquinolona

Son derivados fluorados (ciprofloxacino, levofloxacino y otros) tienen una mejor actividad antibacteriana en comparación con el ácido nalidíxico. Dicha actividad contra las bacterias aerobias Gram negativas es excelente, siendo limitada su acción contra microorganismos Gram positivos<sup>11</sup>.

La clasificación se presenta en la tabla 7.



**Tabla 7.** Clasificación de las fluoroquinolonas

<b>Generación</b>	<b>Quinolona</b>
<b>Primera</b>	Ácido nalidíxico
	Ácido pipernídico
	Ácido piromídico
	Ácido oxolinico
<b>Segunda</b>	Ciprofloxacino
	Norfloxacino
	Flumequine
	Cinoxacino
	Tosufloxacino
	Enoxacino
	Difloxacino
<b>Tercera</b>	Enrofloxacino
	Danofloxacino
	Sarafloxacino
	Amilofloxacino
	Fleroxacino
	Esparfloxacino
	Pefloxacino

**Fuente:** Sumano; 2006.

### **(1) Norfloxacino**

Es recomendado como auxiliar en el tratamiento de infecciones bacterianas de las aves y del ganado porcino, producidas por bacterias susceptibles a este fármaco. En aves se emplea principalmente en pollos de engorde, pollitas, pollonas y pavos contra microorganismos como *Escherichia coli* (colibacilosis aviar), *Haemophyllus gallinarum* (cólera aviar), *Mycoplasma gallisepticum* (micoplasmosis aviar), *Mycoplasma sinoviae* (Sinovitis infecciosa), *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella sp.*,

*Staphylococcus aureus* y especies de *Streptococcus*. En cerdos y terneros se emplea para el tratamiento de diarreas causadas por *Escherichia coli*, *Enterococos*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shiguella*<sup>19</sup>.

## **(2) Ciprofloxacino**

Es el fármaco más activo de este grupo contra los microorganismos gramnegativos aerobios, sobretodo en *P. aeruginosa*<sup>20</sup>.

### **a. Uso terapéutico en animales de consumo humano (aves y cerdos)**

Por el desarrollo de microorganismos resistentes a las fluoquirononas se ha visto la probabilidad de retirar éstos antibióticos ya que dicha resistencia puede transmitirse a los humanos que consumen los animales tratados con éstos medicamentos. Incluso en Estados Unidos existe una moción para retirar su uso en animales productores de alimentos como las aves y los cerdos<sup>18</sup>.

## **2.2.6 Fosfomicina**

Se han determinado límites para trabajos de sensibilidad estandarizados solo para *E. coli* y *E. faecalis* de origen humano. En medicina veterinaria, aunque la fosfomicina se utiliza en algunos países, es escasa la bibliografía sobre sensibilidad en cepas aisladas de animales de compañía<sup>21</sup>.

### **Uso terapéutico en animales de consumo humano**

Por ser un antibiótico bactericida y de amplio espectro, se usa en infecciones usadas para la avicultura. La validez del tratamiento con la finalidad de evitar las infecciones por *E. coli* es alta. Proporcionando una dosis de 150 ppm de fosfomicina en el líquido a un lote de pollos infectados por vía intrasacal, con el serotipo patógeno para aves *E. coli* O78: K80, durante 5 días, se encontró una

mejoría significativa en los índices productivos de los pollos como: son: ganancia media diaria y peso vivo<sup>22</sup>.

## **2.3 Asociación de antibióticos**

### **2.3.1 Sinergia y antagonismo de antibióticos**

Por lo general, la utilización concomitante de antibióticos puede generar sinergia o antagonismo<sup>23, 24</sup>.

### **2.3.2 Normas básicas que rigen las asociaciones de antimicrobianos**

Generalmente se recurre a la asociación de dos medicamentos cuando no se conoce el agente causante de una enfermedad y es necesario cubrir un amplio espectro antibacteriano. Otras razones por las cuales se deben emplear dos o más antibióticos a la vez es cuando se deben tratar infecciones mixtas, para reducir la dosis de un antibiótico que a mayores concentraciones puede resultar tóxico, para prevenir el desarrollo de resistencias bacterianas y por el efecto sinérgico que se puede conseguir<sup>25</sup>.

Tomando en cuenta los mecanismos de acción predominantes de cada antibiótico se debe tomar en cuenta las siguientes pautas para la asociación de los medicamentos<sup>26</sup>:

- Antibióticos de acción bactericida deben relacionarse a otros con los mismos efectos.
- Antibióticos de acción bacteriostática mayormente se unen con bacteriostáticos.
- Sólo en algunos casos se puede fusionar bactericidas con bacteriostáticos, sin embargo, no es beneficioso<sup>26</sup>.

### 2.3.3 Objetivos de las asociaciones de antibióticos en veterinaria

#### (1) Aumento del espectro antibacteriano<sup>26</sup>

La asociación de antibióticos se ha mantenido por mucho tiempo en terapias de especies mayores con buenos resultados cuando se respetan las normas posológicas<sup>28</sup>. En la actualidad, se han incorporado en veterinaria asociaciones libres que utilizan antibióticos más potentes y más recientes, por ejemplo, la asociación de la bencilpenicilina G sódica y gentamicina, es sumamente efectivo para gram-positivos y gramnegativos que atacan a diferentes especies animales de interés veterinario. La bencilpenicilina G sódica es efectiva en cepas de *Streptococos*, *Corinebacterias* y *Estafilococos betalactamasa negativos*. Por su parte, gentamicina tiene una notable acción sobre cepas gram negativas que incluye algunas de *Pseudomonas aeruginosa*. Esto ha permitido su aplicación en infecciones, en la que no se conoce el agente causal, sobre todo en las etapas iniciales de la infección y en espera de un diagnóstico más preciso. En todas las especies, la asociación de bencilpenicilina G sódica y gentamicina, ha sido empleada en infecciones respiratorias agudas, enteritis colibacilar, metritis y mastitis sobreaguda.

La aplicación de los antibióticos debe hacerse de forma separada y simultánea, sin mezclar ambos en una misma jeringa, para evitar la incompatibilidad química. Existe, sin embargo, una excelente asociación para gram positivas, negativas y cepas de estafilococos productores de betalactamasas.

En la tabla 8 se indican algunas aplicaciones de asociaciones y regímenes posológicos actualizados en diferentes patologías y especies.

**Tabla 8:** Asociación bencilpenicilina G sódica – gentamicina e indicaciones en veterinaria

Especie	Indicaciones*	Posología
Caninos Felinos	Neumonías, septicemias, infecciones tejidos blandos; peritonitis, osteomielitis.	Bencilpenicilina G sódica: 20 000 UI/kg - gentamicina 2,5 mg/kg; ambas i.m. c/12 h.
Terneros	Infecciones respiratorias agudas; septicemias. Bacteremias posvirales. Endotoxemias. Onfaloflebitis supurada.	Bencilpenicilina G sódica: 10 000 UI/kg - gentamicina 4 mg/kg; ambas i.m. c/12 h.
Bovinos adultos	Mastitis sobreaguda; neumonía bacteriana primaria y secundaria a virus; metritis séptica aguda y sobreaguda. Linfangitis podal.	Bencilpenicilina G sódica: 10,000 UI/kg gentamicina 3 mg/kg; Ambas i.m. c/12 h.
Equinos	Artritis séptica e infecciones podales agudas. Neumonías; piodermatitis difusa; metritis séptica aguda; cistitis y uretritis sin insuficiencia renal; septicemias.	Bencilpenicilina G sódica: 10-15 000 UI/kg - gentamicina 5 mg/kg; ambas i.m. c/12 h
Porcinos	Infecciones respiratorias refractarias a otros antibióticos: pleuroneumonías posvirales; metritis aguda; alternativa en dermatitis exudativa; infecciones podales; septicemias.	Bencilpenicilina G sódica: 20 000 UI/kg gentamicina 4-5 mg/kg c/12 h.

**Fuente:** Zurich y Hermosilla, 1993.

La amoxicilina representa un eficaz antimicrobiano, sin embargo, es sensible frente a  $\beta$ -lactamasas que dividen su núcleo, inactivando su estructura, pero asociada con ácido clavulánico y sulbactam (que no tienen actividad antimicrobiana per se) son resistentes a la acción de las enzimas bacterianas. Su utilización en estafilococosis y algunas infecciones por gramnegativos en especies menores y algunas enfermedades muy puntuales de carácter local, como por ejemplo la mastitis<sup>26</sup>.

## **(2) Disminuir riesgos tóxicos o inconvenientes de un antibiótico**

En ocasiones la asociación de antibióticos es útil para disminuir el riesgo tóxico de un medicamento sin que se pierda el efecto antimicrobiano. Un ejemplo de ello es la asociación de la

ampicilina – gentamicina. Ampicilina, con amplio margen de seguridad y efectividad para las bacterias gram positivas y gramnegativas, al asociarse con la gentamicina, disminuye sus riesgos, ya que éste antibiótico presenta un margen de seguridad más reducido pero un notable efecto sobre gramnegativos.

En animales seniles o con sospechas de una leve disfunción renal y que requieren gentamicina, ésta se asocia con la ampicilina, para reducir la dosis de la misma. Infecciones respiratorias, articulares o de carácter septicémico son las principales indicaciones de esta asociación, reconocida como un recurso importante en patologías agudas y sobreagudas, al menos en las fases iniciales de cuadro, cuando el diagnóstico etiológico es difícil de establecer y es necesario proceder con urgencia.

Esta fusión se debe utilizar sólo si el uso de tetraciclina es indispensable, pero el efecto final tiene sólo carácter aditivo; no existe una sinergia o potenciación de efectos.

### **(3) Aumento de la potencia antibacteriana**

Se ha debatido el uso de antibióticos combinados por aumento de su fuerza bactericida, no obstante, con la ayuda de estudios *in vitro*, se sabe que se necesitan concentraciones mínimas inhibitorias menores para ejercer acciones líticas o bacteriostáticas, cuando se ensayan las asociaciones. Existen varias evidencias de mejores respuestas clínicas pero hacen falta, estudios comparativos entre las concentraciones sanguíneas de antibióticos en asociación y los efectos de estas concentraciones *in vitro*. Esto puede clarificar mejor la potencia antibacteriana.

#### **(4) Disminución de la resistencia bacteriana**

El uso inadecuado de los antibióticos podría influir en el número de bacterias patógenas que pueden adquirir resistencia.

Esto sobre todo es útil para las infecciones producidas por múltiples microorganismos y cuyas dosis sean concentraciones antimicrobianas adecuadas, de ésta manera al trabajar con asociaciones bactericidas que cubran todo el espectro se consigue producir la lisis de los gérmenes que invaden y colonizan un determinado tejido. Empero, no hay conclusiones de este método.

La resistencia natural de muchas cepas, los mecanismos adaptativos microbianos y factores inmunológicos del huésped constituyen factores que no se manejan exclusivamente con el uso de asociaciones. Por otro lado, como se ha mencionado anteriormente, las multisociaciones pueden ser responsables de 'multirresistencia'. El tema, en consecuencia, debe continuar siendo investigado, recordando que no debe sobrepasarse el número de los componentes de una asociación cuando esto es posible.

#### **(5) Disminución de costos**

La elección de un medicamento puede estar influido por diversos factores: la relación costo- beneficio en cada asociación a elegir, la eficacia medida por parámetros de recuperación clínica y la eliminación de la bacteria. Por ejemplo, en una infección urinaria la asociación penicilina–estreptomicina puede tener un costo menor a la asociación sulfametoxazol – trimetoprim, pero los beneficios son totalmente favorables a ésta última por razones de espectro, margen de seguridad y velocidad de recuperación. En este caso el costo tendría un valor relativo.

Sin embargo, el factor costo puede tener una real influencia en la selección de una asociación antibiótica cuando existen dos productos idénticos o similares de diferente precio. Esto, que es incuestionable, aparece como categórico por su simpleza, pero corresponde a una realidad en mercados competitivos. Es posible que antiguamente este factor fuera relevante, pero ahora no.

#### **(6) Facilitar el transporte transbacteriano de un antibiótico**

La asociación de los aminoglucósidos con betalactámicos, es útil para facilitar el ingreso de los primeros, ya que los aminoglucósidos por sus características polares no atraviesan fácilmente la pared bacteriana, pero esto se revierte con la acción de los betalactámicos que impiden la síntesis de la pared bacteriana, y con lo que finalmente se produce la lisis de la misma. Este suceso ya se había demostrado antes de saber los mecanismos de acción de ambos antibióticos a través de las respuestas favorables por el uso de estas asociaciones frente a diferentes poblaciones bacterianas.

Es importante hacer notar que, en algunos casos, es viable que surja un efecto menor cuando se asocian dos antibióticos que compiten por un mismo sitio de acción. Así, el cloranfenicol presenta gran afinidad por la subunidad ribosomal 50 S; eritromicina y los macrólidos en general, espiramicina o tilosina, también presentan igual afinidad, de tal modo que se establece competencia que impide el efecto de uno de los componentes, hecho que contraindica este tipo de asociaciones.



## 2.4 Evaluación de la sinergia del producto farmacéutico en el área veterinaria

La sinergia se origina cuando los fármacos realizan una misma acción. A su vez esta puede ser: sinergia aditiva y sinergia de potenciación <sup>12</sup>.

Cuando existe asociación, el resultado es principalmente elevado al efecto del antibiótico más activo, mientras que el antagonismo ocurre de manera opuesta<sup>1,2</sup>.

La asociación fluoroquinolona y  $\beta$ -lactamina frente a tales gérmenes aparece más bien como sinérgica y permanece tiempo-dependiente<sup>2</sup>.

Los agentes bacteriostáticos a menudo son sinérgicos, aunque a veces pueden ser antagonistas. El modelo de sinergia figura por la relación de sulfametoxazol y trimetoprim<sup>3</sup>.

Por su parte, los macrólidos, tetraciclinas y fenicoles, bacteriostáticos a las concentraciones tradicionales, adquieren habitualmente una actividad tiempo-dependiente cuando son sometidos a ensayos a una concentración bactericida. Tilmicosina es un potente bactericida concentración-dependiente a las concentraciones generalmente terapéuticas, sobre todo a las *Pasteurellas*. La asociación entre estas moléculas es a menudo sinérgica (por ejemplo, las asociaciones macrólido y tetraciclinas frente a *Pasteurellas*). Por el contrario, las asociaciones de un macrólido y una sinergistina, o de un macrólido y un fenicol son apreciadas como opuestas, no obstante, existen excepciones como florfenicol y tilmicosina sinérgicas frente a *Pasteurella multocida*<sup>2</sup>.

La mayoría de sumas de fosfomicina con otros antibióticos son sinérgicas frente a *S. aureus*. *In vitro*, Fosfomicina ha presentado sinergia asociada con oxacilina, ampicilina, imipenem, cefmetazo, cefalotina, cefotaxima, cefradina, cefoxitina, cefpiroma, linezolid, daptomicina, minociclina, ofloxacino, vancomicina y gentamicina. En una maqueta de meningitis y en otro de infección de coágulos de fibrina implantados en el tejido subcutáneo, llevados a cabo en animales como conejos y producidos por SARM, el tratamiento con la asociación de fosfomicina y cefotaxima fue

elevada a cada uno de los elementos por separado. Las asociaciones de fosfomicina con vancomicina y de fosfomicina con gentamicina, disponibles para tratar patologías como la endocarditis por SARM en conejos, resultaron mayores a la monoterapia con cualquiera de ellos, respecto a la disminución de la mortalidad y de la cifra de verrugas esterilizadas al término del tratamiento<sup>11</sup>.

La asociación de rifampicina con ciprofloxacino, examinada sobre *S. aureus* en fase de crecimiento estacionario, es sinérgica. Pese al antagonismo *in vitro*, hay algunas condiciones que mediante el uso de pautas que incluyen rifampicina se consigue eventos clínicos prósperos que el tratamiento con un solo medicamento<sup>27</sup>.

Para valorar el CMI, existe el método del “tablero de ajedrez” que reporta datos en – mg/L o µg/ml para un aislamiento bacteriano en particular, en el que se cultiva la cepa aislada en pequeños pozos con diferentes concentraciones de medicamento contra infecciones. La menor concentración en la que se inhabilita completamente la cepa (tal como se demuestra por la ausencia de crecimiento bacteriano visible) se reconoce como la CMI. La prueba se realiza en varias cubetas de plástico estériles de fondo cónico o redondo, donde cada pocillo debe contener 0,1 mL<sup>9, 30</sup>.

### III. METODOLOGÍA

#### 3.1 Tipo de estudio

Estudio descriptivo, prospectivo

#### 3.2 Lugar de ejecución del estudio

El presente trabajo fue realizado en el Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiológica y Biotecnológica “Marco Antonio Garrido Malo” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

#### 3.3 Muestra

Productos farmacéuticos veterinarios donde existe asociación de antibióticos, en los que están incluidos amoxicilina trihidrato, gentamicina sulfato, norflorxacino, ciprofloxacino clorhidrato y fosfomicina trometanol contenidos en tres productos farmacéuticos de uso veterinario.

#### 3.4 Microorganismo de prueba

##### Cepas bacterianas

- *Staphylococcus aureus*.
- *Escherichia coli*.

Ambas cepas fueron otorgadas por el laboratorio de microbiología de la Facultad De Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

#### 3.5 Procedimiento

##### 3.5.1 Metodología experimental

Se analizaron materias primas usadas en la fabricación de los productos farmacéuticos veterinarios. Estas fueron amoxicilina trihidrato, gentamicina sulfato, norflorxacino, ciprofloxacino clorhidrato y fosfomicina sódica de concentraciones conocidas.

### 3.5.2 Preparación de las soluciones patrón

**Tabla 9.** Preparación de las soluciones stock

Principio activo	Lote	Potencia (%)	Peso (mg)	Concentración inicial (solución stock) (mg/mL)	Solvente de dilución
Amoxicilina trihidrato	16061025064	100	50	1	Agua
Gentamicina sulfato	201507028	106,30	50	1	Agua
Amoxicilina trihidrato	16061025064	100	50	1	Agua
Norfloxacino base	20161002	99,4	50	1	Hidroxido de sodio 0.1 N
Ciprofloxacino clorhidrato	1051507105	93,1	50	1	Agua
Fosfomicina sódica	20151202	98,06	50	1	Agua

### 3.5.3 Preparación de las diluciones de trabajo

Las diluciones se prepararon en el momento de realizar el ensayo. El intervalo de las diluciones empleadas para todos los antimicrobianos fue de 1 mg/mL, preparados de acuerdo a la tabla 10.

**Tabla 10.** Preparación de las diluciones estándar de las materias primas

Amoxicilina	Peso	Diluciones ( $\mu\text{L}/10\text{ mL}$ )	Concentración
	50mg	Disolver en fiola de 50 mL	1mg/mL
		Diluciones ( $\mu\text{L}/10\text{mL}$ )	( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
		2560	256 (1)
		1280	128 (2)
		640	64 (3)
		320	32 (4)
		160	16 (5)
		80	8 (6)
		40	4 (7)
		20	2 (8)
		10	1 (9)
		5	0,5 (10)
		2,5	0,25 (11)
Ciprofloxacino	Peso	Diluciones ( $\mu\text{L}/10\text{ mL}$ )	( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
	50 mg	Disolver en fiola de 50mL	1mg/mL
		2560	256 (1)
		1280	128 (2)
		640	64 (3)
		320	32 (4)
		160	16 (5)
		80	8 (6)
		40	4 (7)
		20	2 (8)
		10	1 (9)
		5	0,5 (10)
		2,5	0,25 (11)
Norfloxacino	Peso	Disolver en fiola de 50 mL	1mg/mL
	50 mg	Diluciones ( $\mu\text{L}/10\text{mL}$ )	( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
		320	32 (1)
		160	16 (2)
		80	8 (3)
		40	4 (4)
		20	2 (5)
		10	1 (6)
		5	0,5 (7)
Gentamicina	Peso	Disolver en fiola de 50 mL	1mg/ml
	50mg	Diluciones ( $\mu\text{L}/10\text{mL}$ )	( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
		320	32 (1)
		160	16 (2)

		80	8 (3)
		40	4 (4)
		20	2 (5)
		10	1 (6)
		5	0,5 (7)
Fosfomicina sódica	Peso	Disolver en fiola de 50ml	1mg/ml
	50mg	Diluciones (µL/10mL)	(µg/mL )
		320	32 (1)
		160	16 (2)
		80	8 (3)
		40	4 (4)
		20	2 (5)
		10	1 (6)
		5	0,5 (7)

**Tabla 11.** Concentraciones de los productos farmacéuticos veterinarios (antibióticos) que se comercializan en Perú.

<b>Producto comercial 1</b>
ciprofloxacino 10%
fosfomicina 10%
<b>Producto comercial 2</b>
amoxicilina 8%
gentamicina 4%
<b>Producto comercial 3</b>
amoxicilina 10%
norfloxacino 5%

### 3.5.4 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los antimicrobianos presentes en los productos farmacéuticos veterinarios.

#### *Método de microtitulación en placa por tablero de ajedrez*

Se utilizó el método del tablero de ajedrez en el rango de concentraciones ensayadas para cada agente antimicrobiano con cuatro a cinco diluciones más bajas que la concentración mínima inhibitoria y, al menos, dos diluciones mayores que la concentración mínima inhibitoria (estas previamente halladas

experimentalmente). Cada fila tiene una cantidad constante de un fármaco y diluciones dobles del segundo antibacteriano.

Para cada hilera de la placa se designó un fármaco y en cada uno de los pocillos se depositó 50  $\mu$ L de la dilución del antimicrobiano correspondiente, de menor a mayor dilución. La hilera de pocillos de la columna 12 se reservó para los controles de crecimiento en los que se adicionó 100  $\mu$ L de Caldo Mueller Hinton - cationes ajustados (CMH-CA) más el inóculo. La última fila de pocillos de la placa se utilizó para uno o más controles de esterilidad y en ella se adicionaron 100  $\mu$ L de CMH-CA. En la tabla 12 se muestra el esquema de la placa de microtitulación.

**Tabla 12.** Esquema de placa de microtitulación

		Amoxicilina (primera fila CMI individual)										
Gentamicina (primera columna CMI individual)	C.P	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
	0,12	0,06 0,12	0,12 0,12	0,25 0,12	0,5 0,12	1 0,12	2 0,12	4 0,12	8 0,12	16 0,12	32 0,12	64 0,12
	0,25	0,06 0,25	0,12 0,25	0,25 0,25	0,5 0,25	1 0,25	2 0,25	4 0,25	8 0,25	16 0,25	32 0,25	64 0,25
	0,5	0,06 0,5	0,12 0,5	0,25 0,5	0,5 0,5	1 0,5	2 0,5	4 0,5	8 0,5	16 0,5	32 0,5	64 0,5
	1	0,06 1	0,12 1	0,25 1	0,5 1	1 1	2 1	4 1	8 1	16 1	32 1	64 1
	2	0,06 2	0,12 2	0,25 2	0,5 2	1 2	2 2	4 2	8 2	16 2	32 2	64 2
	4	0,06 4	0,12 4	0,25 4	0,5 4	1 4	2 4	4 4	8 4	16 4	32 4	64 4
	8	0,06 8	0,12 8	0,25 8	0,5 8	1 8	2 8	4 8	8 8	16 8	32 8	C.E.

C.P. Control positivo (caldo muller hinton más microorganismo más indicador)

C.E. Control estéril (caldo muller hinton más indicador)

Para ello, se determinó experimentalmente la CMI de antibióticos individuales previamente para la prueba. Luego, se construyó un panel de configuración, que una vez determinado el formato del panel y conocidas las concentraciones

mínimas inhibitorias, se procedió a elaborar el cálculo de las concentraciones de cada antimicrobiano.

### 3.6 Análisis de los datos

#### *Cálculo de la Concentración Mínima Inhibitoria Fraccionaria*

Para ver los efectos de los antimicrobianos juntos se calculó la Concentración Mínima Inhibitoria Fraccionaria (FIC):

$$\text{FIC del Agente A} = \frac{\text{CMI del agente A en combinación}}{\text{CMI del agente A solo}}$$

$$\text{Para FIC del Agente B} = \frac{\text{CMI del agente B en combinación}}{\text{CMI del agente B solo}}$$

$$\Sigma \text{ FIC} = \text{FIC de A} + \text{FIC de B}$$

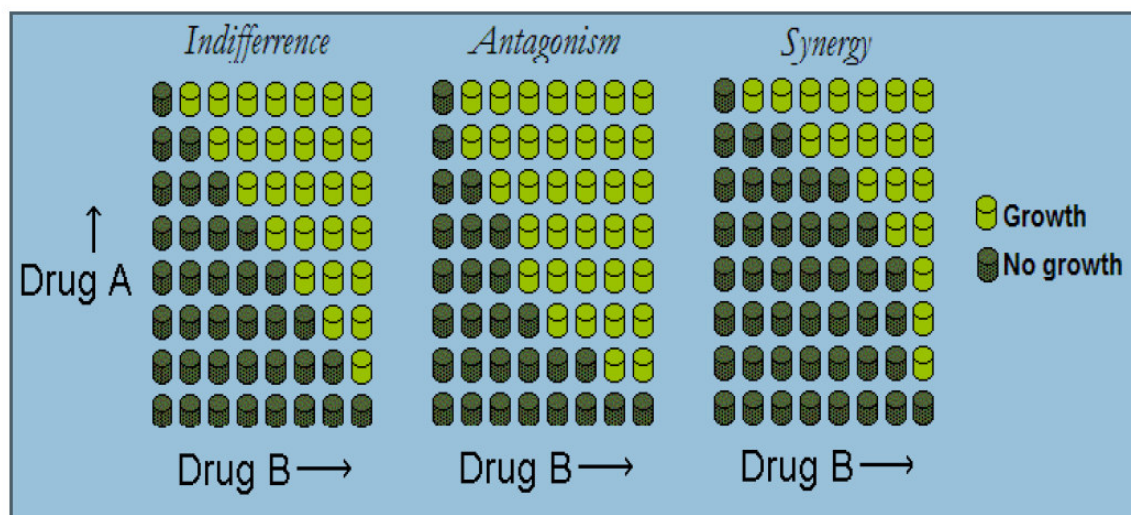
#### *Interpretación de la sumatoria*

Los efectos de la actividad combinada pueden ser:

- Indiferencia: la actividad de los antimicrobianos no difiere de los efectos solos.  $0.5 < X \leq 4$ .
- Sinergismo: la actividad de los dos antimicrobianos es mayor que la actividad separados de los mismos.  $X \leq 0,5$ .
- Antagonismo: la actividad de los antimicrobianos es menor.  $X > 4$
- Sinergismo parcial: se define cuando  $\Sigma \text{ FIC} = 0,5 < X < 1$ . Su designación es controversial.



Para el cálculo del CMI se tomaron en cuenta las intersecciones de los pocillos donde hubo cambio de color, como se muestra en la siguiente figura:



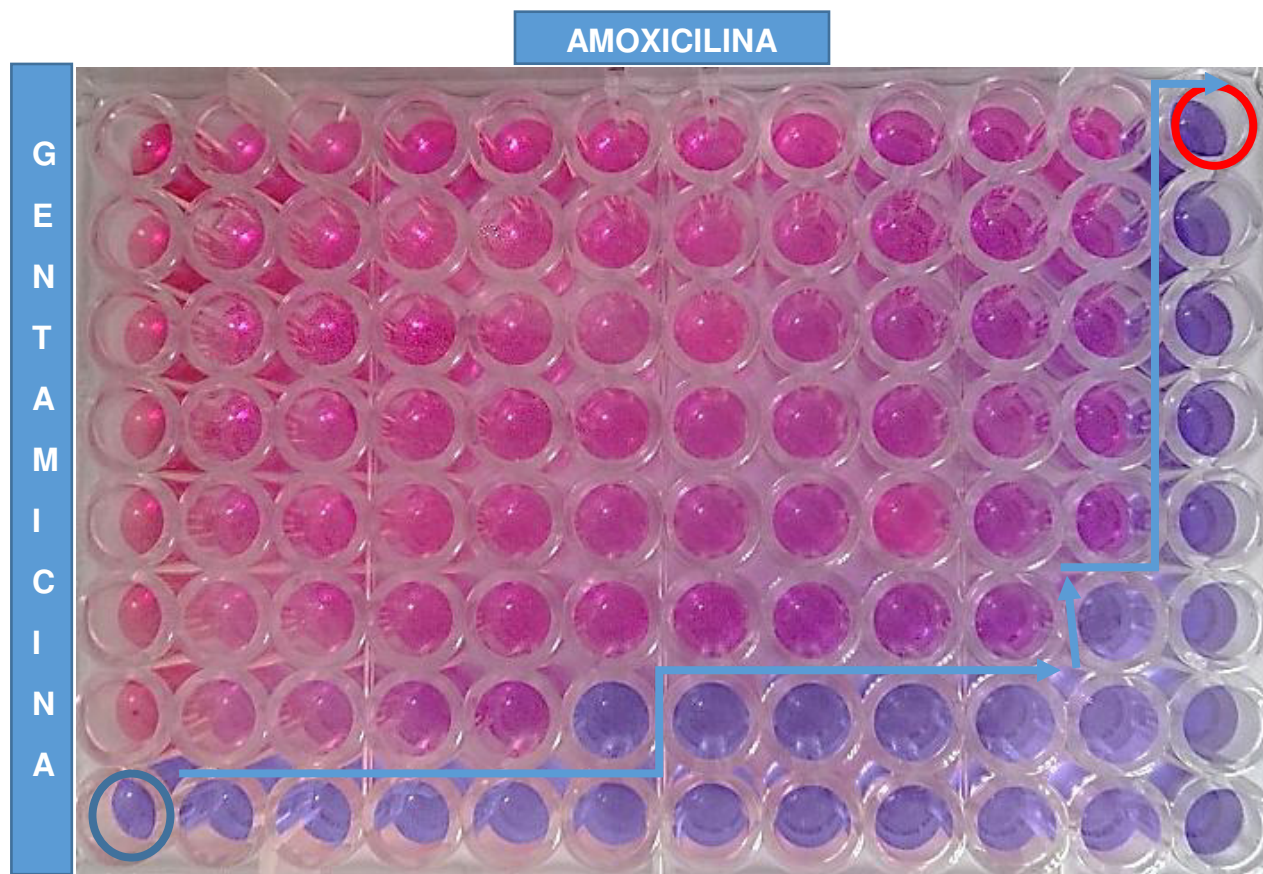
**Figura 1.** Ejemplo de pocillos ante la sinergia de los medicamentos

#### IV. RESULTADOS

**Tabla 13.** CMI individual según agente bacteriano y antibiótico

Antibiótico	CMI individual según agente bacteriano	
	<i>Escherichia coli</i> ( $\mu\text{g/mL}$ )	<i>Staphylococcus aureus</i> ( $\mu\text{g/mL}$ )
Amoxicilina	64	64
Gentamicina	4	8
Ciprofloxacino	64	64
Norfloxacino	1	2
Fosfomicina	8	8

##### 4.1 Determinación de la sinergia de la amoxicilina y gentamicina en *S. aureus*



**Figura 2.** Actividad antibacteriana de amoxicilina – gentamicina en *S. aureus*

**Tabla 14.** Concentraciones del antibiótico amoxicilina – gentamicina en *S. aureus*

Microorganismo <i>S. aureus</i>		Amoxicilina (Primera fila CMI individual)										
Gentamicina (Primera columna CMI individual)	C.C.	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
		0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	C.E.

**CMI amoxicilina: 64 µg/mL****CMI gentamicina: 8 µg/mL****Cálculos de la Σ FIC**CMI (64-0,12)Σ FIC<sup>Amoxicilina- gentamicina</sup>:  $64/64 + 0,12/8 = 1 + 0,015 = 1,015$  (Indiferencia)CMI (64-0,25)Σ FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $64/64 + 0,25/8 = 1 + 0,031 = 1,031$  (Indiferencia)CMI (64-0,5)Σ FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $64/64 + 0,5/8 = 1 + 0,06 = 1,06$  (Indiferencia)CMI (64-1)Σ FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $64/64 + 1/8 = 1 + 0,125 = 1,125$  (Indiferencia)CMI (32-2)Σ FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $32/64 + 2/8 = 0,50 + 0,25 = 0,75$  (Sinergismo parcial)CMI (16-4)Σ FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $16/64 + 4/8 = 0,25 + 0,50 = 0,75$  (Sinergismo parcial)CMI (8-4)Σ FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $8/64 + 4/8 = 0,125 + 0,50 = 0,625$  (Sinergismo parcial)CMI (4-4)Σ FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $4/64 + 4/8 = 0,0625 + 0,50 = 0,56$  (Sinergismo parcial)CMI (2-4)Σ FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $2/64 + 4/8 = 0,031 + 0,50 = 0,53$  (Sinergismo parcial)CMI (1-4)Σ FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $1/64 + 4/8 = 0,016 + 0,50 = 0,52$  (Sinergismo parcial)CMI (0,5-8)Σ FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $0,5/64 + 8/8 = 0,008 + 1 = 1,01$  (Indiferencia)

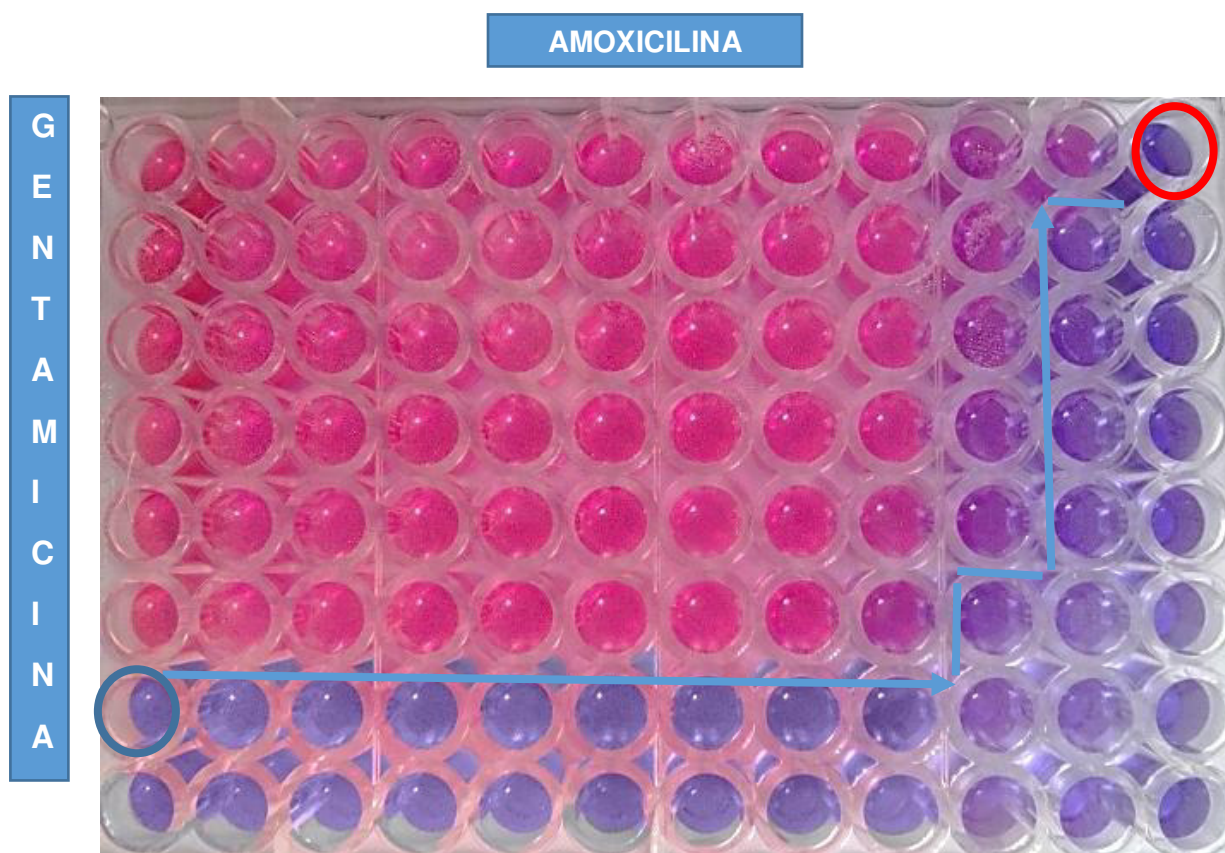
CMI (0,25-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $0,25/64 + 8/8 = 0,004 + 1 = 1,00$  (Indiferencia)

CMI (0,12-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $0,12/64 + 8/8 = 0,002 + 1 = 1,00$  (Indiferencia)

CMI (0,06-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina - gentamicina</sup>:  $0,06/64 + 8/8 = 0,001 + 1 = 1,00$  (Indiferencia)

Según los resultados obtenidos se observa que en la asociación de la amoxicilina y gentamicina, frente al *S. aureus*, hubo indiferencia con las microdiluciones 64-0,12 µg/mL, 64-0,25 µg/mL, 64-0,5 µg/mL, 64-1 µg/mL, 0,5-8 µg/mL, 0,25-8 µg/mL, 0,12-8 µg/mL y 0,06-8 µg/mL y sinergismo parcial con las microdiluciones de 32-2 µg/mL, 16-4 µg/mL, 4-8 µg/mL, 4-4 µg/mL, 2-4 µg/mL y 1-4 µg/mL. Dicho sinergismo parcial se dio con concentraciones intermedias de amoxicilina y gentamicina.

#### 4.2 Determinación de la sinergia de la amoxicilina y gentamicina en *E. coli*



**Figura 3:** Actividad antibacteriana amoxicilina – gentamicina en *E. coli*



**Tabla 15:** Concentraciones del antibiótico amoxicilina – gentamicina en *E. coli*

Microorganismo <i>E. coli</i>		Amoxicilina (Primera fila CMI individual)										
Gentamicina (Primera columna CMI individual)	C.C.	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
	0,12	0,06 0,12	0,12 0,12	0,25 0,12	0,5 0,12	1 0,12	2 0,12	4 0,12	8 0,12	16 0,12	32 0,12	64 0,12
	0,25	0,06 0,25	0,12 0,25	0,25 0,25	0,5 0,25	1 0,25	2 0,25	4 0,25	8 0,25	16 0,25	32 0,25	64 0,25
	0,5	0,06 0,5	0,12 0,5	0,25 0,5	0,5 0,5	1 0,5	2 0,5	4 0,5	8 0,5	16 0,5	32 0,5	64 0,5
	1	0,06 1	0,12 1	0,25 1	0,5 1	1 1	2 1	4 1	8 1	16 1	32 1	64 1
	2	0,06 2	0,12 2	0,25 2	0,5 2	1 2	2 2	4 2	8 2	16 2	32 2	64 2
	4	0,06 4	0,12 4	0,25 4	0,5 4	1 4	2 4	4 4	8 4	16 4	32 4	64 4
	8	0,06 8	0,12 8	0,25 8	0,5 8	1 8	2 8	4 8	8 8	16 8	32 8	C.E.

**CMI amoxicilina: 64 µg/dL****CMI gentamicina: 4 µg/dL****Cálculos de la Σ FIC**

CMI (32-0,12)Σ FIC<sup>Amoxicilina-gentamicina</sup>:  $32/64 + 0,12/4 = 0,5 + 0,03 = 0,53$  (Sinergismo parcial)

CMI (32-0,25)Σ FIC<sup>Amoxicilina-gentamicina</sup>:  $32/64 + 0,25/4 = 0,5 + 0,06 = 0,56$  (Sinergismo parcial)

CMI (32-0,5)Σ FIC<sup>Amoxicilina-gentamicina</sup>:  $32/64 + 0,5/4 = 0,5 + 0,125 = 0,625$  (Sinergismo parcial)

CMI (32-1)Σ FIC<sup>Amoxicilina-gentamicina</sup>:  $32/64 + 1/4 = 0,5 + 0,25 = 0,75$  (Sinergismo parcial)

CMI (16-2)Σ FIC<sup>Amoxicilina-gentamicina</sup>:  $16/64 + 2/4 = 0,25 + 0,5 = 0,75$  (Sinergismo parcial)

CMI (8-4)Σ FIC<sup>Amoxicilina-gentamicina</sup>:  $8/64 + 4/4 = 0,125 + 1 = 1,13$  (Indiferencia)

CMI (4-4)Σ FIC<sup>Amoxicilina-gentamicina</sup>:  $4/64 + 4/4 = 0,0625 + 1 = 1,06$  (Indiferencia)

CMI (2-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina- gentamicina</sup>:  $2/64+4/4=0,031+1=1,031$  (Indiferencia)

CMI (1-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina- gentamicina</sup>:  $1/64+4/4=0,016+1=1,016$  (Indiferencia)

CMI (0,5-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina- gentamicina</sup>:  $0,5/64+4/4=+0,078+1=1,08$  (Indiferencia)

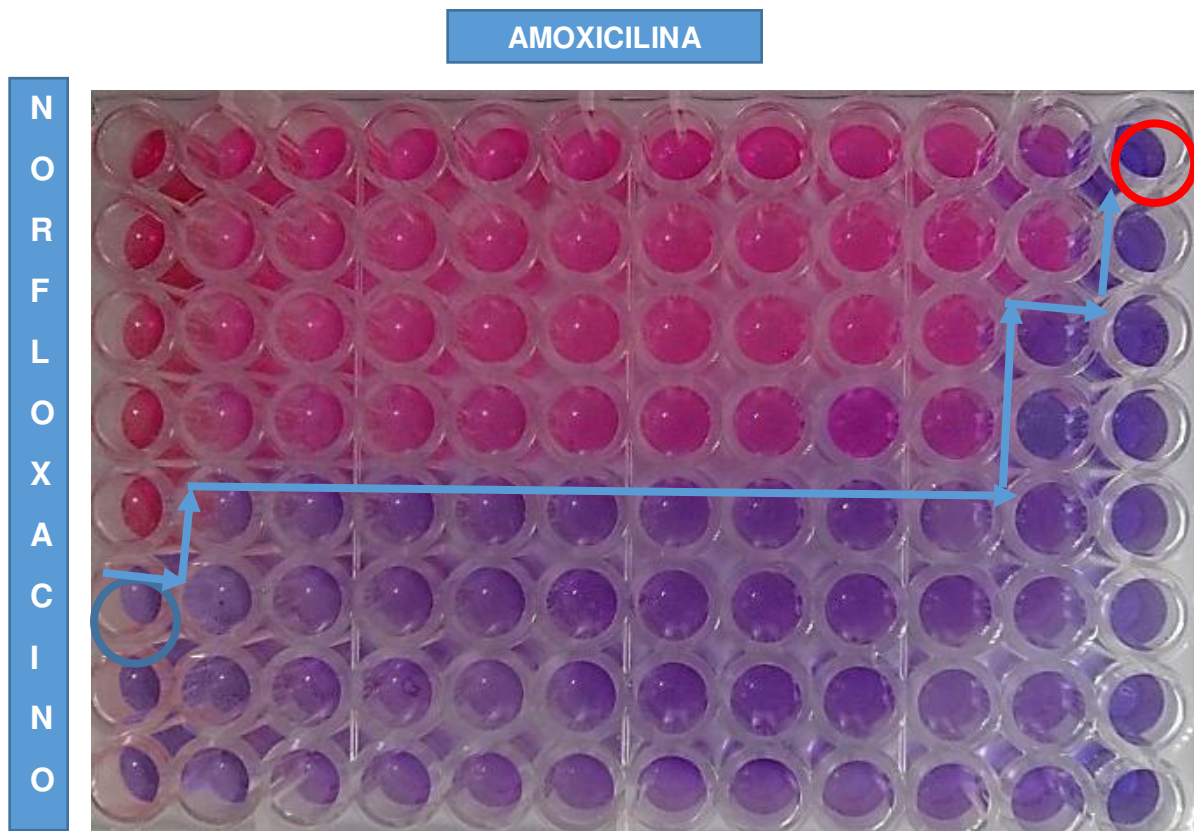
CMI (0,25-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina- gentamicina</sup>:  $0,25/64+4/4=0,004+1=1,00$  (Indiferencia)

CMI (0,12-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina- gentamicina</sup>:  $0,12/64+4/4=0,002+1=1,00$  (Indiferencia)

CMI (0,06-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina- gentamicina</sup>:  $0,06/16+4/4=0,001+1=1,00$  (Indiferencia)

Se observa que en la asociación de la amoxicilina y gentamicina, frente al *E. coli*, hubo sinergismo parcial con las microdiluciones de 32-0.12  $\mu\text{g/mL}$ , 32-0.25  $\mu\text{g/mL}$ , 32-0.5  $\mu\text{g/mL}$ , 32-1  $\mu\text{g/mL}$  y 16-2  $\mu\text{g/mL}$ , indiferencia con las microdiluciones 8-4  $\mu\text{g/mL}$ , 4-4  $\mu\text{g/mL}$ , 2-4  $\mu\text{g/mL}$ , 1-4  $\mu\text{g/mL}$ , 0.5-4  $\mu\text{g/mL}$ , 0.25-4  $\mu\text{g/mL}$ , 0.12-4  $\mu\text{g/mL}$  y 0.06-4  $\mu\text{g/mL}$ . El sinergismo parcial se obtuvo con concentraciones mayores de amoxicilina y menores de gentamicina.

#### 4.3 Determinación de la sinergia de la amoxicilina y norfloxacino en *S. aureus*



**Figura 4.** Actividad antibacteriana amoxicilina – norfloxacino en *S. aureus*

**Tabla 16:** Concentraciones del antibiótico amoxicilina – norfloxacin en *S. aureus*

Microorganismo <i>S. aureus</i>		Amoxicilina (Primera fila CMI individual)										
Norfloxacin (Primera columna CMI individual)	C.C.	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
	0,12	0,06 0,12	0,12 0,12	0,25 0,12	0,5 0,12	1 0,12	2 0,12	4 0,12	8 0,12	16 0,12	32 0,12	64 0,12
	0,25	0,06 0,25	0,12 0,25	0,25 0,25	0,5 0,25	1 0,25	2 0,25	4 0,25	8 0,25	16 0,25	32 0,25	64 0,25
	0,5	0,06 0,5	0,12 0,5	0,25 0,5	0,5 0,5	1 0,5	2 0,5	4 0,5	8 0,5	16 0,5	32 0,5	64 0,5
	1	0,06 1	0,12 1	0,25 1	0,5 1	1 1	2 1	4 1	8 1	16 1	32 1	64 1
	2	0,06 2	0,12 2	0,25 2	0,5 2	1 2	2 2	4 2	8 2	16 2	32 2	64 2
	4	0,06 4	0,12 4	0,25 4	0,5 4	1 4	2 4	4 4	8 4	16 4	32 4	64 4
	8	0,06 8	0,12 8	0,25 8	0,5 8	1 8	2 8	4 8	8 8	16 8	32 8	C.E.

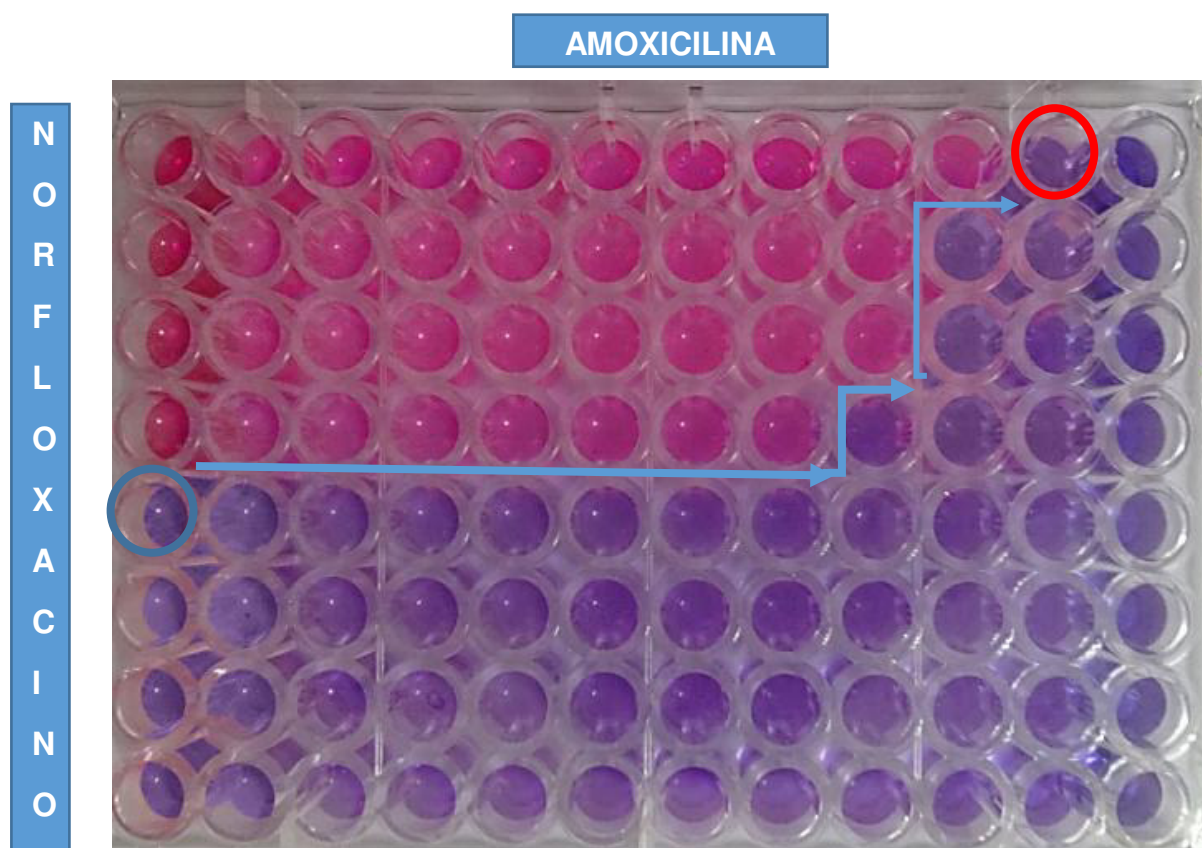
**CMI amoxicilina: 64 µg/dL****CMI norfloxacin: 2 µg/dL****Cálculos de la Σ FIC**CMI (64-0,12) Σ FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $64/64 + 0,12/2 = 1 + 0,06 = 1,006$  (Indiferencia)CMI (32-0,25) Σ FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $32/64 + 0,25/2 = 0,5 + 0,125 = 0,625$  (Indiferencia)CMI (32-0,5) Σ FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $32/64 + 0,5/2 = 0,5 + 0,25 = 0,75$  (Indiferencia)CMI (16-1) Σ FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $16/64 + 1/2 = 0,25 + 0,5 = 0,75$  (Indiferencia)CMI (8-1) Σ FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $8/64 + 1/2 = 0,125 + 0,5 = 0,51$  (Sinergismo parcial)CMI (4-1) Σ FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $4/64 + 1/2 = 0,06 + 0,5 = 0,51$  (Sinergismo parcial)CMI (2-1) Σ FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $2/64 + 1/2 = 0,031 + 0,5 = 0,50$  (Sinergismo)CMI (1-1) Σ FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $1/64 + 1/2 = 0,016 + 0,5 = 0,50$  (Sinergismo)CMI (0,5-1) Σ FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $0,5/64 + 1/2 = 0,008 + 0,5 = 0,50$  (Sinergismo)CMI (0,25-1) Σ FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $0,25/64 + 1/2 = 0,004 + 0,5 = 0,50$  (Sinergismo)

CMI (0,12-1)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacino</sup>:  $0,12/64 + 1/2 = 0,002 + 0,5 = 0,50$  (Sinergismo)

CMI (0,06-1)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacino</sup>:  $0,06/64 + 1/2 = 0,001 + 0,5 = 0,50$  (Sinergismo)

En la microplaca de la asociación de la amoxicilina con el norfloxacinó frente al *S. aureus* se observó indiferencia con las microdiluciones 64-0,12  $\mu\text{g/mL}$ , 32-0,25  $\mu\text{g/mL}$ , 32-0,5  $\mu\text{g/mL}$  y 16-1  $\mu\text{g/mL}$ , sinergismo parcial con las microdiluciones 8-1  $\mu\text{g/mL}$ , 4-1  $\mu\text{g/mL}$  y sinergismo con las microdiluciones 2-1  $\mu\text{g/mL}$ , 1-1  $\mu\text{g/mL}$ , 0,5-1  $\mu\text{g/mL}$ , 0,25-1  $\mu\text{g/mL}$ , 0,12-1  $\mu\text{g/mL}$  y 0,06-1  $\mu\text{g/mL}$ , alcanzándose dicho sinergismo con concentraciones mínimas de amoxicilina y norfloxacinó.

#### 4.4 Determinación de la sinergia de la amoxicilina y norfloxacinó en *E. coli*



**Figura 5.** Actividad antibacteriana amoxicilina – norfloxacinó en *E. coli*



**Tabla 17:** Concentraciones del antibiótico amoxicilina – norfloxacin en *E. coli*

Microorganismo <i>E. coli</i>		Amoxicilina (Primera fila CMI individual)										
Norfloxacin (Primera columna CMI individual)	C.C.	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
	0,12	0,06 0,12	0,12 0,12	0,25 0,12	0,5 0,12	1 0,12	2 0,12	4 0,12	8 0,12	16 0,12	32 0,12	64 0,12
	0,25	0,06 0,25	0,12 0,25	0,25 0,25	0,5 0,25	1 0,25	2 0,25	4 0,25	8 0,25	16 0,25	32 0,25	64 0,25
	0,5	0,06 0,5	0,12 0,5	0,25 0,5	0,5 0,5	1 0,5	2 0,5	4 0,5	8 0,5	16 0,5	32 0,5	64 0,5
	1	0,06 1	0,12 1	0,25 1	0,5 1	1 1	2 1	4 1	8 1	16 1	32 1	64 1
	2	0,06 2	0,12 2	0,25 2	0,5 2	1 2	2 2	4 2	8 2	16 2	32 2	64 2
	4	0,06 4	0,12 4	0,25 4	0,5 4	1 4	2 4	4 4	8 4	16 4	32 4	64 4
	8	0,06 8	0,12 8	0,25 8	0,5 8	1 8	2 8	4 8	8 8	16 8	32 8	C.E.

**CMI amoxicilina: 32 µg/dL****CMI norfloxacin: 1 µg/dL**

CMI (16-0,12)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $16/32 + 0,12/1 = 0,5 + 0,12 = 0,62$  (Sinergismo parcial)

CMI (16-0,25)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $16/32 + 0,25/1 = 0,5 + 0,25 = 0,75$  (Sinergismo parcial)

CMI (8-0,5)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $8/32 + 0,5/1 = 0,5 + 0,5 = 1$  (Indiferencia)

CMI (4-1)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $4/32 + 1/1 = 0,25 + 1 = 1,25$  (Indiferencia)

CMI (2-1)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $2/32 + 1/1 = 0,125 + 1 = 2,06$  (Indiferencia)

CMI (1-1)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $1/32 + 1/1 = 0,0625 + 1 = 1,06$  (Indiferencia)

CMI (0,5-1)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $0,5/32 + 1/1 = 0,032 + 1 = 1,032$  (Indiferencia)

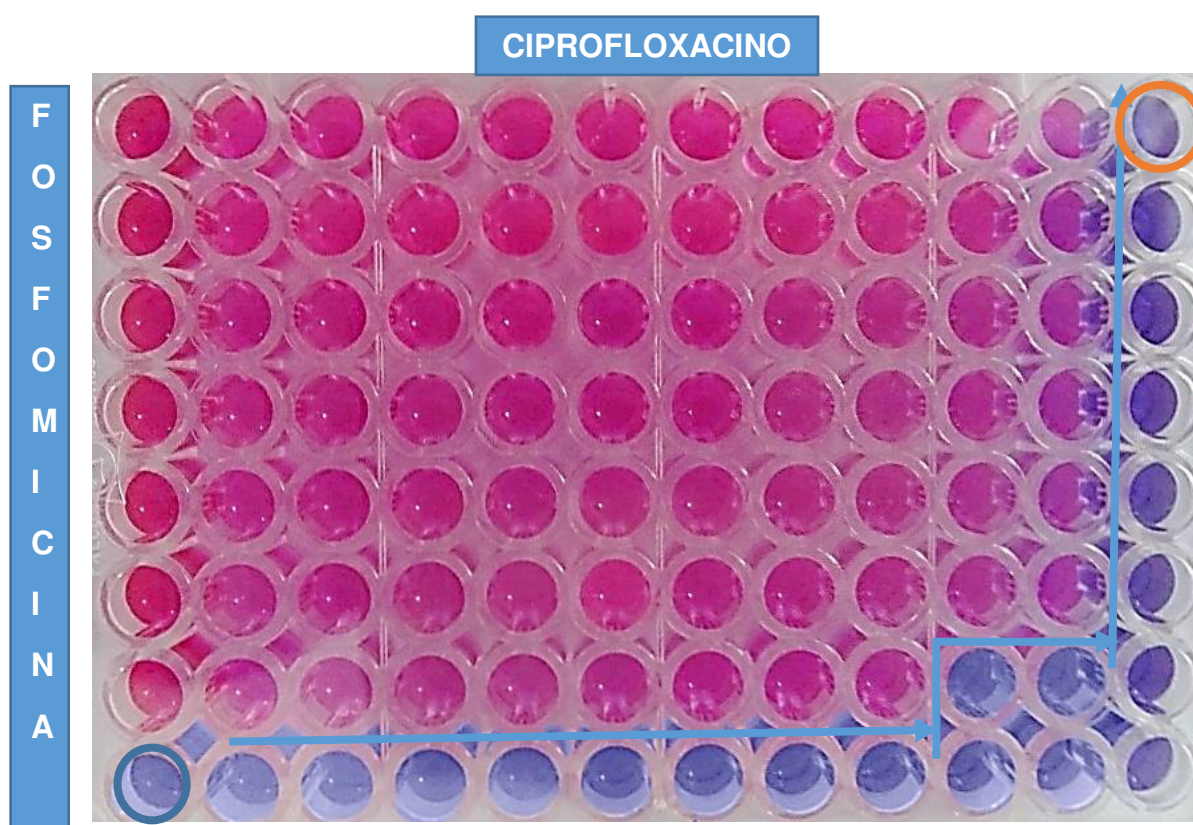
CMI (0,25-1)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $0,25/32 + 1/1 = 0,016 + 1 = 1,016$  (Indiferencia)

CMI (0,12-1)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-norfloxacin</sup>:  $0,12/32 + 1/1 = 0,008 + 1 = 1,00$  (Indiferencia)

CMI (0,06-1)  $\Sigma$  FIC<sup>Amoxicilina-Norfloxacin</sup>:  $0,06/32 + 1/1 = 0,004 + 1 = 1,00$  (Indiferencia)

En la microplaca de la asociación de la amoxicilina con el norfloxacinó frente a la *E. coli* hubo se observó sinergismo parcial en las microdiluciones 16-0,12  $\mu\text{g/mL}$  y 16-0,25  $\mu\text{g/mL}$  e indiferencia en las microdiluciones 8-0,5  $\mu\text{g/mL}$ , 4-1  $\mu\text{g/mL}$ , 2-1  $\mu\text{g/mL}$ , 1-1  $\mu\text{g/mL}$ , 0.5-1  $\mu\text{g/mL}$ , 0.25-1  $\mu\text{g/mL}$ , 0.12-1  $\mu\text{g/mL}$  y 0.06-1  $\mu\text{g/mL}$ . Se obtuvo además que el sinergismo parcial se dio con concentraciones mayores de amoxicilina y mínimas de norfloxacinó.

#### 4.5 Determinación de la sinergia de la ciprofloxacino y fosfomicina en *S. aureus*



**Figura 6.** Actividad antibacteriana ciprofloxacino – fosfomicina en *S. aureus*

**Tabla 18:** Concentraciones del antibiótico ciprofloxacino – fosfomicina en *S. aureus*

Microorganismo <i>S. aureus</i>		Ciprofloxacino (Primera fila CMI individual)										
Fosfomicina (Primera columna CMI individual)	C.C.	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
	0,06	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
	0,12	0,06 0,12	0,12 0,12	0,25 0,12	0,5 0,12	1 0,12	2 0,12	4 0,12	8 0,12	16 0,12	32 0,12	64 0,12
	0,25	0,06 0,25	0,12 0,25	0,25 0,25	0,5 0,25	1 0,25	2 0,25	4 0,25	8 0,25	16 0,25	32 0,25	64 0,25
	0,5	0,06 0,5	0,12 0,5	0,25 0,5	0,5 0,5	1 0,5	2 0,5	4 0,5	8 0,5	16 0,5	32 0,5	64 0,5
	1	0,06 1	0,12 1	0,25 1	0,5 1	1 1	2 1	4 1	8 1	16 1	32 1	64 1
	2	0,06 2	0,12 2	0,25 2	0,5 2	1 2	2 2	4 2	8 2	16 2	32 2	64 2
	4	0,06 4	0,12 4	0,25 4	0,5 4	1 4	2 4	4 4	8 4	16 4	32 4	64 4
	8	0,06 8	0,12 8	0,25 8	0,5 8	1 8	2 8	4 8	8 8	16 8	32 8	C.E.

**CMI ciprofloxacino: 64 µg/dL****CMI fosfomicina: 8 µg/dL**CMI (64-0,12)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $64/64 + 0,12/8 = 1 + 0,015 = 1,02$  (Indiferencia)CMI (64-0,25)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $64/64 + 0,25/8 = 1 + 0,032 = 1,03$  (Indiferencia)CMI (64-0,5)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $64/64 + 0,5/8 = 1 + 0,063 = 1,06$  (Indiferencia)CMI (64-1)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $64/64 + 1/8 = 1 + 0,125 = 1,125$  (Indiferencia)CMI (64-2)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $64/64 + 2/8 = 1 + 0,25 = 1,25$  (Indiferencia)CMI (32-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $32/64 + 4/8 = 0,5 + 0,5 = 1$  (Indiferencia)CMI (16-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $16/64 + 4/8 = 0,25 + 0,5 = 0,75$  (Sinergismo parcial)CMI (8-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $8/64 + 8/8 = 0,125 + 1 = 1,125$  (Indiferencia)CMI (4-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $4/64 + 8/8 = 0,063 + 1 = 1,063$  (Indiferencia)CMI (2-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $2/64 + 8/8 = 0,032 + 1 = 1,032$  (Indiferencia)CMI (1-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $1/64 + 8/8 = 0,016 + 1 = 1,016$  (Indiferencia)CMI (0,5-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $0,5/64 + 8/8 = 0,008 + 1 = 1,008$  (Indiferencia)

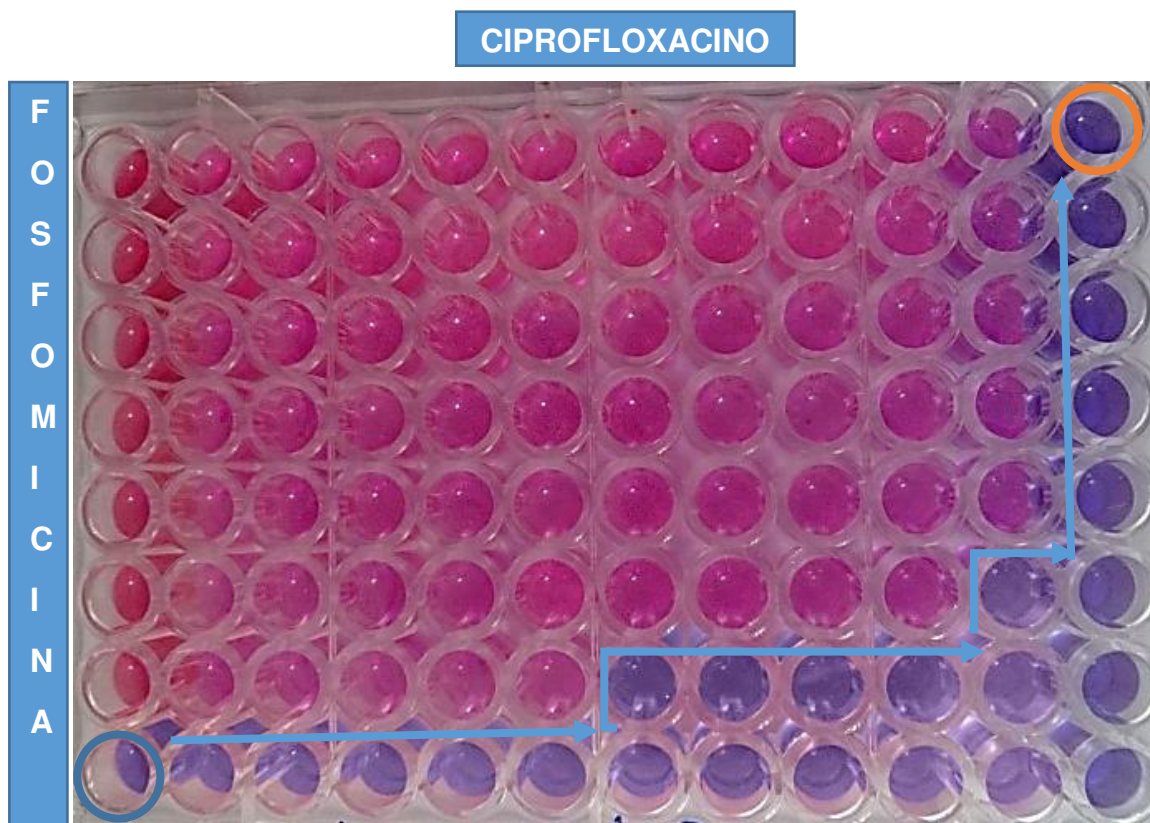
CMI (0,25-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $0,25/64+8/8=0,004+1=1,004$  (Indiferencia)

CMI (0,12-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $0,12/64+8/8=0,002+1=1,002$  (Indiferencia)

CMI (0,06-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $0,06/64+8/8=0,001+1=1,001$  (Indiferencia)

En la asociación del ciprofloxacino y la fosfomicina frente al *S. aureus* se halló sinergismo solo en una microdilución 16-4  $\mu\text{g/mL}$  e indiferencia con las microdiluciones 64-0.12  $\mu\text{g/mL}$ , 64-0.25  $\mu\text{g/mL}$ , 64-0.5  $\mu\text{g/mL}$ , 64-1  $\mu\text{g/mL}$ , 64-2  $\mu\text{g/mL}$ , 32-4  $\mu\text{g/mL}$ , 8-8  $\mu\text{g/mL}$ , 4-8  $\mu\text{g/mL}$ , 2-8  $\mu\text{g/mL}$ , 1-8  $\mu\text{g/mL}$ , 0.5-8  $\mu\text{g/mL}$ , 0.25-8  $\mu\text{g/mL}$ , 0.12-8  $\mu\text{g/mL}$  y 0.06-8  $\mu\text{g/mL}$ . El sinergismo observado, aunque fue parcial, se dio a concentraciones intermedias de ciprofloxacino y fosfomicina, siendo mayor la concentración del ciprofloxacino que del norfloxacino.

#### 4.6 Determinación de la sinergia de la ciprofloxacino y fosfomicina en *E. coli*



**Figura 7.** Actividad antibacteriana ciprofloxacino – fosfomicina en *E. coli*



**Tabla 19:** Concentraciones del antibiótico ciprofloxacino – fosfomicina en *E. coli*

Microorganismo <i>E. coli</i>		Ciprofloxacino (Primera fila CMI individual)										
Fosfomicina (Primera columna CMI individual)	C.C.	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
	0,06	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	C.E.

**CMI ciprofloxacino: 64 µg/dL****CMI fosfomicina: 8 µg/dL**CMI (64-0,12)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $64/64 + 0,12/8 = 1 + 0,02 = 1,02$  (Indiferencia)CMI (64-0,25)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $64/64 + 0,25/8 = 1 + 0,032 = 1,032$  (Indiferencia)CMI (64-0,5)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $64/64 + 0,5/8 = 1 + 0,063 = 1,063$  (Indiferencia)CMI (64-1)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $64/64 + 1/8 = 1 + 0,125 = 1,125$  (Indiferencia)CMI (32-2)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $32/64 + 2/8 = 0,5 + 0,25 = 0,75$  (Sinergismo parcial)CMI (16-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $16/64 + 4/8 = 0,25 + 0,5 = 0,75$  (Sinergismo parcial)CMI (8-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $8/64 + 4/8 = 0,125 + 0,5 = 0,625$  (Sinergismo parcial)CMI (4-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $4/64 + 4/8 = 0,063 + 0,5 = 0,56$  (Sinergismo parcial)CMI (2-4)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $2/64 + 4/8 = 0,032 + 0,5 = 0,53$  (Sinergismo parcial)CMI (1-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $1/64 + 8/8 = 0,016 + 1 = 1,016$  (Indiferencia)CMI (0,5-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $0,5/64 + 8/8 = 0,008 + 1 = 1,00$  (Indiferencia)CMI (0,25-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $0,25/64 + 8/8 = 0,004 + 1 = 1,00$  (Indiferencia)

CMI (0,12-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $0,12/64+8/8=0,002+1=1,00$  (Indiferencia)

CMI (0,06-8)  $\Sigma$  FIC<sup>Ciprofloxacino-fosfomicina</sup>:  $0,06/64+8/8=0,001+1=1,00$  (Indiferencia)

En la asociación de la ciprofloxacino y fosfomicina frente a *la E. coli* se tuvo que con las microdiluciones 64-0.12 µg/mL, 64-0.25 µg/mL, 64-0.5 µg/mL y 64-1 µg/mL, 1-8 µg/mL, 0.5-8 µg/mL, 0.25-8 µg/mL, 0.12-8 µg/mL y 0.06-8 µg/mL hubo indiferencia. Se obtuvo sinergismo parcial con las microdiluciones 32-2 µg/mL, 16-4 µg/mL, 8-4 µg/mL, 4-4 µg/mL, 2-4 µg/mL. Teniéndose éste sinergismo con concentraciones mínimas de ciprofloxacino y la mayor concentración de fosfomicina.

## V. DISCUSIÓN

El uso de medicamentos en combinación constituye un proceder de uso común cuyo objetivo es lograr sinergismo terapéutico, con el cual se espera que el efecto terapéutico logrado con la combinación, en el caso de antimicrobianos, sea mayor que el obtenido con cada uno, al ser utilizado individualmente<sup>3</sup>.

Es así que, en ésta investigación, al evaluar la asociación entre amoxicilina y gentamicina encontramos sinergismo parcial contra *S. aureus* con las microdiluciones de 32-2 µg/mL; 16-4 µg/mL; 4-8 µg/mL; 4-4 µg/mL; 2-4 µg/mL y 1-4 µg/mL en *E. coli* fue con las concentraciones de amoxicilina-gentamicina 32-0.12 µg/mL; 32-0.25 µg/mL; 32-0.5 µg/mL; 32-1 µg/mL y 16-2 µg/mL. Encontramos que la combinación, en ambos compuestos farmacéuticos, actúa sinérgicamente contra una amplia gama de infecciones causadas por bacterias Gram positivas, entre éstas *Staphylococcus* así como por las bacterias Gram-negativas como *E. coli*; esto, debido a que amoxicilina por ser una penicilina semisintética de amplio espectro inhibe la pared celular de la bacteria y gentamicina se une a la subunidad 30S del ribosoma de las bacterias, interrumpiendo la síntesis de proteínas e inactivando su estructura molecular<sup>4,11, 12</sup>.

Asimismo, se tuvo que la CMI de amoxicilina y gentamicina como materias primas para *S. aureus*, fue de 64 µg/mL y 8 µg/mL respectivamente, tal como se demuestra en la investigación de *Calderón et al*<sup>29</sup> quien, en el estudio con 30 cepas de *S. aureus*, hallaron que el rango de la CMI de gentamicina fue de 0,25 µg/mL a 16 µg/mL. La CMI de amoxicilina y gentamicina para *E. coli* fue de 64 µg/mL y 4 µg/mL respectivamente, resultando así que la concentración del producto farmacéutico comercial 2 se encuentra entre los valores de CMI de sus materias primas.

En el caso de la asociación amoxicilina-norfloxacino, como materias primas se encontró que hubo sinergismo contra *S. aureus* con microdiluciones de 2-1 µg/mL; 1-1 µg/mL; 0,5-1 µg/mL; 0.25-1 µg/mL; 0,12-1 µg/mL y 0,06-1 µg/mL; así como lo halló *Nworu et al*<sup>30</sup> en moléculas parecidas a las usadas en la presente investigación (ampicilina y ciprofloxacino) encontrando que los índices de concentración inhibitoria

fraccional de éstos antibióticos asociados tuvieron un comportamiento sinérgico frente a *E. coli* y *S. aureus*.

En cambio frente a *E. coli* se obtuvo sinergismo parcial con las concentraciones de 16-0,12 µg/mL y 16-0,25 µg/mL; observándose que se necesitó mayores concentraciones de amoxicilina para *E. coli* que para *S. aureus* y mínimas concentraciones de norfloxacino para ambas bacterias.

Esto debido a que norfloxacino puede presentar algunos sinergismos (no predecibles) con penicilinas de amplio espectro como amoxicilina, efecto sinérgico que puede ser útil contra bacterias resistentes. Además, norfloxacino es una fluoroquinolona soluble en agua y aprobada en varios países para uso veterinario, por ser de gran actividad contra gram-negativos y algunas bacterias gram positivas. En vista de que la mayoría de los patógenos en aves y cerdos son gramnegativos, podría resultar útil para el tratamiento contra varios patógenos en estas especies<sup>12</sup>.

En el caso de la asociación amoxicilina-norfloxacino se obtuvo que la CMI para *S. aureus* fue de 64 µg/mL y 2 µg/mL, respectivamente; notándose que la concentración en el producto farmacéutico comercial corresponde a la de los antibióticos separados. La CMI de amoxicilina y norfloxacino para *E. coli* fue de 32 µg/mL y 1 µg/mL, respectivamente; encontrando también, como en la cepa anterior, que los valores de las concentraciones de los medicamentos asociados se encuentran entre los valores individuales de sus materias primas.

En el caso de la asociación ciprofloxacino-fosfomicina, como materias primas, se observó sinergismo parcial contra *S. Aureus* en una única microdilución 16-4 µg/mL y para *E. coli* se halló sinergismo parcial con las microdiluciones 32-2 µg/mL; 16-4 µg/mL; 8-4 µg/mL; 4-4 µg/mL y 2-4 µg/mL; esto debido a que las propiedades farmacocinéticas de las fluoroquinolonas incluyen rápida absorción por vía oral o parenteral y concentraciones mínimas inhibitorias efectivas para la mayoría de las bacterias gram-negativas y gram-positivas<sup>30</sup>.

La actividad sinérgica de fosfomicina-ciprofloxacino puede explicarse con el probable efecto post antibiótico de ciprofloxacino y la disminución del inóculo bacteriano por la acción de fosfomicina, permitiendo a la fluoroquinolona expresar su actividad frente a



un menor número de microorganismos activos, consiguiendo así actividad antibacteriana sinérgica<sup>30</sup>.

Asimismo, se tuvo que el CMI de ciprofloxacino y fosfomicina, para *S. aureus* fue de 64 µg/mL y 8 µg/mL respectivamente. La CMI de ciprofloxacino y fosfomicina para *E. coli* fue de 64 µg/ml y 8 µg/ml, respectivamente, observándose también, como en la cepa anterior, que los valores de las concentraciones de los medicamentos asociados se encuentran entre los valores de sus materias primas.

## VI. CONCLUSIONES

1. Para *E. coli*, la Concentración Mínima Inhibitoria de las materias primas fueron, para las asociaciones:
  - Amoxicilina (64 µg/mL) y gentamicina (4µg/mL)
  - Amoxicilina (32 µg/mL) y norfloxacinó (1 µg/mL)
  - Ciprofloxacino (64 µg/mL) y fosfomicina (8 µg/mL)
2. Para *S. aureus*, la Concentración Mínima Inhibitoria fue, en las asociaciones:
  - Amoxicilina (64 µg/mL), gentamicina (8 µg/mL)
  - Amoxicilina (64 µg/mL), norfloxacinó (2 µg/mL),
  - Ciprofloxacino (64 µg/mL) y fosfomicina, (8 µg/mL)
3. Se evidenció sinergismo parcial para *E. coli* en las asociaciones de materias primas amoxicilina/gentamicina, amoxicilina/norfloxacinó y ciprofloxacino/fosfomicina. En *S. aureus* hubo sinergismo parcial en las asociaciones de amoxicilina/gentamicina y ciprofloxacino/fosfomicina y sinergismo en la asociación de amoxicilina/norfloxacinó.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Díaz F, Espinoza C, Molfese I, Leguía G, Arellano G, Dagieu D, *et al.* ¿Cuáles son los riesgos de consumir pollo con antibióticos? [Revista en línea]. Rev. de Cien. Vet, 2015; 31 (3): 21-3. [Acceso el 14 de enero del 2017]. Disponible en: <http://www.cmv1.pe/wp-content/uploads/2015/10/MV-Revista-de-Ciencias-Veterinarias-N%C2%B0-14.pdf>
2. Anadón A. Antibióticos de uso veterinario y su relación con la seguridad alimentaria y salud pública. Madrid: Instituto de España. [En línea] Real Academia de Ciencias Veterinarias, 2007; 1(1): 76-78. [Acceso el 05 de enero del 2017]. Disponible en: <http://racve.es/files/2013/03/2007-02-10-Discursos-ingreso-D.-Arturo-Ram%C3%B3n-Anad%C3%B3n-Navarro.pdf>
3. Cordiés L, Machado L. Combinaciones antimicrobianas. [Revista en línea]. Acta Médica, 1998; 8(1): 101-4 [Acceso el 15 de diciembre del 2016] Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8\\_1\\_98/act14198.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act14198.pdf)
4. Villarán R, Richter R. Industria farmacéutica: Vitamina para la economía mundial.[En línea]. Revista Made in Germany, 2012;1(1): 2-3 [Acceso el 17 de octubre del 2016]. Disponible en: <http://www.camara-alemana.org.pe/publicaciones/migediciones/2012mig-marzo-mayo.pdf>.
5. Raya R. Sin título. Convención de la Industria Farmacéutica Veterinaria [Internet].Codigo F. N.D. México: CANIFARMA; 2016. [Acceso el 10 de marzo del 2017]. Disponible en: <http://codigof.mx/convencion-la-industria-farmaceutica-veterinaria/>
6. Vallat B. Medicamentos veterinarios. Boletín [Revista en Línea]. Boletín 2010; [Acceso el 20 de octubre del 2016]; 1. Disponible en: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Publications\\_%26\\_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull\\_2010-1-ESP.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Publications_%26_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull_2010-1-ESP.pdf)
7. Badiola J. Guía de uso responsable de medicamentos veterinarios. Madrid: Editorial Agrícola Española S.A. Disponible en:

<http://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/Gu%C3%ADa-de-Uso-Responsable-de-Medicamentos-Veterinarios-bovino.pdf>

8. Legiscomex. Productos farmacéuticos en Perú/Inteligencia de mercados. Farmacias, boticas y droguerías, establecimientos comerciales autorizados para importar y comercializar medicamentos. [En línea] Colombia: Legiscomex; 2014; [Acceso el 22 de octubre del 2016]. Disponible en: <https://www.legiscomex.com/BancoMedios/Documentos%20PDF/editado-estudio-mercado-sector-farmaceutico-peru-corregido.pdf>
9. Wilberts B, Smith M, Bickett D. Programa Nacional de Acreditación Veterinaria. Módulo 23: Uso de antibióticos en animales. [En línea]. Estados Unidos: Universidad Estatal de Iowa; 2011. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/pdf-library/Acreditacion-Veterinaria/NVAP-Mod23-Antibiotics-in-Animals.pdf>
10. Sumano H. Libro de medicina veterinaria. 3ª ed. México: Mc Graw Hill; 2006.
11. Katzung B, Masters S, Trevor A. Farmacología básica y clínica. 12ª ed. México: Mc Graw Hill; 2012.
12. Pérez R. Farmacología veterinaria. Chile: Universidad de Concepción; 2010.
13. Luna F. Vademecum de Sanidad Animal. [En línea] Consultado el 27 mayo de 2017 Disponible en: [http://www.sani.com.ar/producto.php?id\\_producto=5800](http://www.sani.com.ar/producto.php?id_producto=5800)
14. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Resumen de las características del producto. [En línea] España: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, 2012 [Acceso el 24 de octubre del 2016]. Disponible en: <https://botplusweb.portalfarma.com/Documentos/2014/4/28/67835.pdf>
15. Sumano H, Gutiérrez L. Consideraciones farmacológicas de la antibioticoterapia en aves simposio Brasil Sul de Avicultura Brasil. 2004. [En línea] Consultado el 27 de mayo del 2017. Disponible en [http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/anais\\_V\\_bsa\\_HSumano.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais_V_bsa_HSumano.pdf)

16. Alcázar J. Manual básico de terapéutica y farmacología veterinaria. La Paz: Solid; 2011.
17. Paredes V. Farmacología Veterinaria II. 1ª ed. Managua: Universidad Nacional Agraria; 2010.
18. Agrovvetmarket. Catálogo de productos. [En línea]. 2007. [Acceso el 20 de enero del 2017]. Disponible en: <http://www.agrovvetmarket.com/pdf/catalogos/todo%20vademecun%20mayo3.pdf>
19. Espinosa A. Floxacin. [En línea] Laboratorio Avimex S.A. 1999. [Acceso el 21 de enero del 2017] Disponible en: [http://www.engormix.com/laboratorio-avimex-mexico/floxacin-norfloxacin-antimicrobiano-aves-cerdos-sh557\\_pr26388.htm](http://www.engormix.com/laboratorio-avimex-mexico/floxacin-norfloxacin-antimicrobiano-aves-cerdos-sh557_pr26388.htm)
20. Ventriglia M, Vives D, Medvedovsky D, Rothlin R. Farmacología II. Quinolonas. 2009, [En línea]; [Acceso el 21 de enero del 2017]. Disponible en: <https://farmacomedia.files.wordpress.com/2010/05/quinolonas.pdf>
21. Abate S, Carloni G, Maubecín M, Pereyra A, Gentilini E. Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires. [En línea] InVet, 2005, 7(1): 165-7. Consultado el 24 de enero del 2017. Disponible en: <http://www.fvet.uba.ar/publicaciones/archivos/ant/suplemento3j.pdf>.
22. Fernández A, Lara C., Puyuelo R, Aramoya J. Bregante M.A. Infecciones en avicultura: nuevos antibióticos. Mundo ganadero. [En línea]. 1998. Consultado el 30 de noviembre del 2016. Disponible en: [http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf\\_mg/mg\\_19\\_98\\_103\\_60\\_62.pdf](http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_mg/mg_19_98_103_60_62.pdf)
23. Delgado A. Farmacoterapia de la infección ocular. [En línea], 2015; [Acceso el 27 de julio del 2016]. Disponible en: <http://documents.tips/documents/clasificacion-de-antibioticos-segun-su-mecanismo-de-accion.html#>

24. Cordiés L, Machado L. Combinaciones antimicrobianas. [Revista en línea]. Acta Médica. 1998; 8(1): 101-4. [Acceso el 15 de diciembre del 2016]. Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8\\_1\\_98/act14198.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act14198.pdf)
25. Gómez M, Calvo A, Prieto J. Normas generales para el empleo de los antibióticos. Capítulo 53. Universidad Nacional de Litoral. [En línea] Facultad de Ciencias Veterinarias. Argentina, 2010. Disponible en: <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/posgrado/especializaciones/espsaludanimal/informacion/material/Farmacologiaclinicaantibioticos/Normas%20generales%20del%20empleo%20de%20antibioticos.pdf>
26. Zurich L, Hermosilla R. Asociaciones de antibióticos. Indicaciones y limitaciones en terapéutica veterinaria. [Internet] Monografías de Medicina Veterinaria de Chile, 1993 [Acceso el 01 de agosto del 2016]; 15(1-2). Disponible en: <http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/index.php/MMV/article/view/5007/4892>
27. Mensa J, Soriano A, Llinares P, Barberán J, Montejo M, Salavert M, *et al.* Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. [Internet] Rev. Esp. Quimioter, 2013; 26 (1): 1-84 [Acceso el 20 de agosto del 2016]. Disponible en: <http://seq.es/seq/0214-3429/26/sup/guia.pdf>
28. Malbrán C. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. [En línea] Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, 2012; 32(2): 1-48. [Acceso el 20 de febrero del 2017]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>
29. Calderón M, Zurich L, Rosende S, Bosshard L. Concentraciones Mínimas Inhibitorias de algunos antibióticos sobre cepas bacterianas obtenidas de otitis canina. Rev Avances en Ciencias Veterinarias, 1987; 2(1): 51-6.

30. Nworu C, Esimone C. Comparative Evaluation of three in vitro techniques in the interaction of Ampicillin and Ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2006; 5(2): 605-11.